



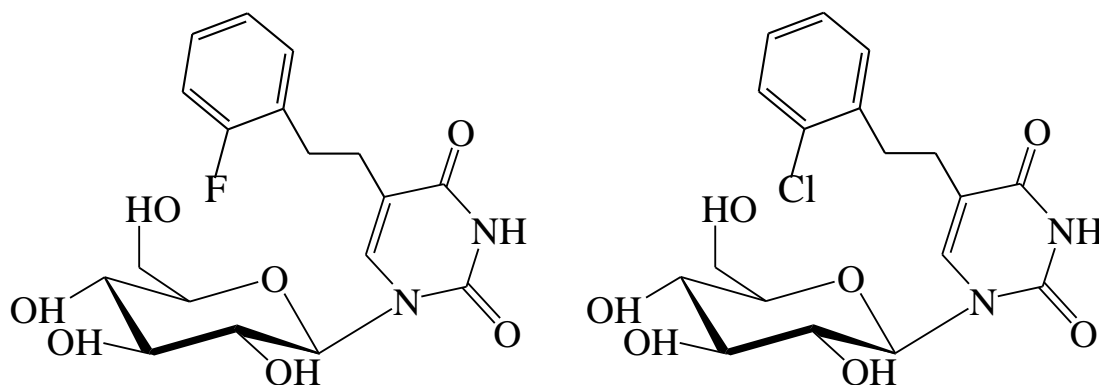
ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΘΕΣΣΑΛΙΑΣ

ΤΜΗΜΑ ΒΙΟΧΗΜΕΙΑΣ ΚΑΙ ΒΙΟΤΕΧΝΟΛΟΓΙΑΣ

**ΠΡΟΓΡΑΜΜΑ ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΩΝ ΣΠΟΥΔΩΝ: «ΕΦΑΡΜΟΓΕΣ ΜΟΡΙΑΚΗΣ
ΒΙΟΛΟΓΙΑΣ-ΜΟΡΙΑΚΗ ΓΕΝΕΤΙΚΗ, ΔΙΑΓΝΩΣΤΙΚΟΙ ΔΕΙΚΤΕΣ»**

ΚΑΡΑΣΤΕΡΓΙΟΥ ΑΘΑΝΑΣΙΟΣ

ΔΙΑΤΡΙΒΗ ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΗΣ ΕΙΔΙΚΕΥΣΗΣ



**“Σύνθεση και βιολογική αποτίμηση C5- αλογονοφαίνυλο -
πυρανονουκλεοζιτών”**

ΛΑΡΙΣΑ 2016

ΔΙΑΤΡΙΒΗ ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΗΣ ΕΙΔΙΚΕΥΣΗΣ

**“Σύνθεση και βιολογική αποτίμηση C5- αλογονοφαίνυλο -
πυρανονουκλεοζιτών”**

**“Synthesis and Biological Evaluation of Novel C5-Modified
Halogenphenyl Pyranonucleosides”**

ΤΡΙΜΕΛΗΣ ΕΞΕΤΑΣΤΙΚΗ ΕΠΙΤΡΟΠΗ:

- **Κομιώτης Δημήτριος** – Καθηγητής Οργανικής Χημείας του Τμήματος Βιοχημείας και Βιοτεχνολογίας του Πανεπιστημίου Θεσσαλίας
- **Μαρκουλάτος Παναγιώτης**— Καθηγητής Εφαρμοσμένης Μικροβιολογίας του Τμήματος Βιοχημείας και Βιοτεχνολογίας του Πανεπιστημίου Θεσσαλίας
- **Μπαλατσός Νικόλαος**— Επίκουρος Καθηγητής Βιοχημείας του Τμήματος Βιοχημείας και Βιοτεχνολογίας του Πανεπιστημίου Θεσσαλίας

ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ

Η παρούσα μεταπτυχιακή εργασία εκπονήθηκε στο εργαστήριο Οργανικής Χημείας του Τμήματος Βιοχημείας και Βιοτεχνολογίας του Πανεπιστημίου Θεσσαλίας, υπό την επίβλεψη του Καθηγητή Οργανικής Χημείας κ. Κομιώτη Δημήτριου τον οποίο θα ήθελα να ευχαριστήσω για τις εποικοδομητικές του υποδείξεις.

Επίσης θα ήθελα να εκφράσω τις ευχαριστίες μου στη μεταδιδακτορική ερευνήτρια κ. Μαντά Στυλιανή καθώς επίσης τον υποψήφιο διδάκτορα κ. Κολλάτο Νικόλαο για την πολύτιμη βοήθειά τους και για την παροχή όλων των εφοδίων που μου μεταβίβασαν ώστε να ολοκληρωθεί η παρούσα διατριβή.

Τέλος, θα ήθελα να ευχαριστήσω όλο το προσωπικό και τα μέλη εργαστηρίου για την υποδοχή και το ευχάριστο κλίμα συνεργασίας που φρόντισαν να επικρατεί καθ'όλη τη διάρκεια.

ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

ΠΕΡΙΛΗΨΗ	6
ABSTRACT	7
1.ΕΙΣΑΓΩΓΗ	8
1.1 Υδατάνθρακες	8
1.2 Κυκλικές δομές μονοσακχαριτών - Σχηματισμός ημιακετάλης.....	9
1.3 Νουκλεοζίτες	11
1.4 Τρόπος δράσης νουκλεοζιτών.....	13
1.5 Αντικαρκινικά νουκλεοζιτικά ανάλογα	14
1.6 Αντιιικά νουκλεοζιτικά ανάλογα	18
1.7 Νουκλεοζιτικά ανάλογα με σάκχαρο μια εξόζη.....	21
2. ΕΙΔΙΚΟ ΜΕΡΟΣ	24
2.1 Στόχος – σκοπός μελέτης.....	24
3. ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ	29
3.1. ΥΛΙΚΑ ΣΥΝΘΕΣΗΣ ΝΟΥΚΛΕΟΖΟΤΙΚΩΝ ΑΝΑΛΟΓΩΝ	29
3.2 ΓΕΝΙΚΗ ΜΕΘΟΔΟΛΟΓΙΑ	30
3.2.1 Χρωματογραφία λεπτής στιβάδας (TLC : thin layer chromatography)	30
3.2.2 Χρωματογραφία στήλης.....	32
3.2.3 Ξήρανση διαλυτών.....	33
3.2.4 Ταυτοποίηση ενώσεων	33

3.3 ΜΕΘΟΔΟΙ	33
3.3.1 Επισκόπηση της συνθετικής οδού.....	34
3.3.2 Μεθοδολογία της σύνθεσης	35
3.3.3 Σύνθεση των 1-(2',3',4',6'-τετράκισ-Ο-ακέτυλο-β-D- γλυκοπυρανόζυλο)-5 -[(-2 –φθόρο ή χλωροφαίνυλο) -αιθύνυλο] νουκλεοζιτών της ουρακίλης.....	36
3.3.4 Σύνθεση των 1-(β-D-γλυκοπυρανόζυλο)-5-[(-2- φθόρο- ή χλώρο-φαίνυλο)- αιθύνυλο] νουκλεοζιτών της ουρακίλης.	38
3.3.5 Σύνθεση των 1-(2',3',4',6'-τετράκισ-Ο-ακέτυλο-β-D- γλυκοπυρανόζυλο)-5 -[(-2 –φθόρο ή χλωροφαίνυλο) - αίθυλο]- νουκλεοζιτών της ουρακίλης.....	40
3.3.6 Σύνθεση των 1-(β-D-γλυκοπυρανόζυλο)-5-[(-2- φθόρο- ή χλώρο-φαίνυλο)-αίθυλο] νουκλεοζιτών της ουρακίλης.	42
4.ΤΑΥΤΟΠΟΙΗΣΗ ΜΕ ¹H - NMR	44
5. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ- ΣΥΖΗΤΗΣΗ	Σφάλμα! Δεν έχει οριστεί σελιδοδείκτης.46
6.ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ	Σφάλμα! Δεν έχει οριστεί σελιδοδείκτης.48

ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Τα νουκλεοζιδικά ανάλογα είναι μόρια τα οποία προκύπτουν από δομικές τροποποιήσεις των φυσικών νουκλεοζιδίων που ανήκουν στην γενικότερη κατηγορία των β -N-γλυκοζιδίων και διαδραματίζουν καθοριστικό ρόλο στη θεραπεία του καρκίνου και των ιογενών λοιμώξεων. Μεγάλος αριθμός νουκλεοζιδικών αναλόγων δρουν ως αντιμεταβολίτες, ανταγωνίζονται τους φυσικούς νουκλεοζίτες και αλληλεπιδρούν με ενδοκυττάριους στόχους με σκοπό την πρόκληση της κυτταροτοξικότητας. Άλλοι πάλι ενσωματώνονται κατά την αντιγραφή ή την επιδιόρθωση του DNA, οδηγώντας έτσι στον τερματισμό της διαδικασίας σύνθεσής του ενώ άλλοι λειτουργούν ως αναστολείς της πολυμεράσης.

Στην παρούσα διπλωματική εργασία περιγράφεται η συνθετική πορεία νέων νουκλεοζιδικών αναλόγων, με τροποποίηση στη βάση, ως εν δυνάμει αντικαρκινικοί και αντιικοί παράγοντες.

Τα νέα μόρια που συντέθηκαν στο εργαστήριο Οργανικής Χημείας του τμήματος Βιοχημείας και Βιοτεχνολογίας του Πανεπιστημίου Θεσσαλίας είναι τα πυρανονουκλεοζιδικά ανάλογα που φέρουν στην 5-θέση της ουρακίλης: 1-αίθυλο-2-φθόροβενζόλιο και 1-αίθυλο-2-χλώροβενζόλιο.

ABSTRACT

Nucleoside analogs are molecules that result from structural modifications of natural nucleosides belonging to the general class of beta-*N*-glycosides and play a key role in the treatment of cancer and viral infections. Many nucleoside analogs act as antimetabolites, natural nucleosides compete and interact with intracellular targets to cause cytotoxicity. Others incorporated during replication or repair of DNA, leading to the termination of the composition process while others function as polymerase inhibitors.

This dissertation describes the new synthetic route of nucleosidic analogues, bearing modifications at the base moiety, as potential anticancer and antiviral agents.

The new molecules which were synthesized in the laboratory of Organic Chemistry, Department of Biochemistry and Biotechnology, University of Thessaly are pyranonucleosides bearing with: 1-ethyl-2-fluorobenzene and 1-ethyl-2-chlorobenzene at 5-position of uracil.

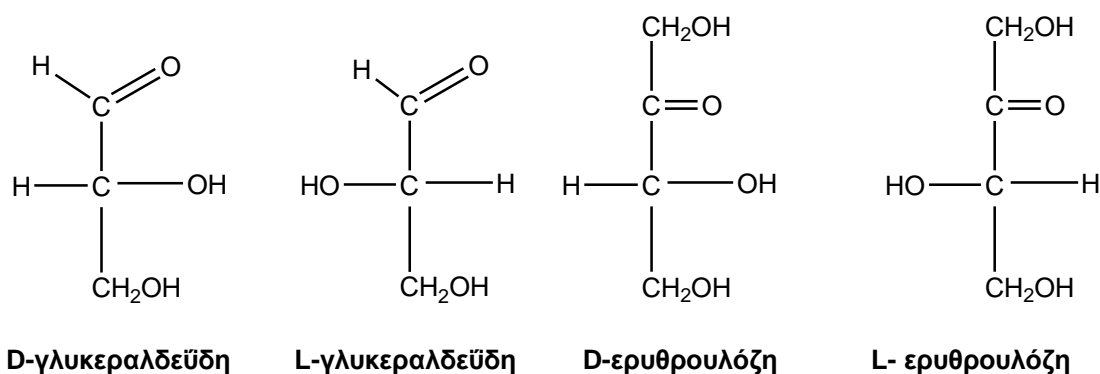
1.ΕΙΣΑΓΩΓΗ

1.1 Υδατάνθρακες

Τα σάκχαρα ή υδατάνθρακες συνιστούν μια πολυπληθή τάξη φυσικών προϊόντων, κοινό χαρακτηριστικό των οποίων είναι ότι αποτελούν **πολυυδροξυλιωμένα παράγωγα αλδεϋδών και κετονών ή περισσότερο πολύπλοκων ενώσεων που μπορούν να υδρολυθούν προς αυτά τα παράγωγα**. Η ονομασία **υδατάνθρακες** προήλθε από το γεγονός ότι πολλά σάκχαρα περιέχουν το υδρογόνο και το οξυγόνο σε αναλογία 2:1, όπως δηλ. και στο νερό, π.χ. η κοινή ζάχαρη που έχει εμπειρικό τύπο $C_{12}H_{22}O_{11}$, δηλ. $C_{12}(H_2O)_{11}$. Τα σάκχαρα ταξινομούνται σε απλά σάκχαρα ή μονοσακχαρίτες, τα οποία αποτελούν και τις απλούστερες δομικές μονάδες της τάξης αυτής, δισακχαρίτες ή γενικότερα ολιγοσακχαρίτες, και πολυσακχαρίτες. Επίσης, υπάρχουν παραλλαγμένα σάκχαρα που περιέχουν άλλες ομάδες, π.χ. την αμινική ομάδα, καθώς και σύνθετα παράγωγα των σακχάρων που καλούνται γλυκοζίτες.

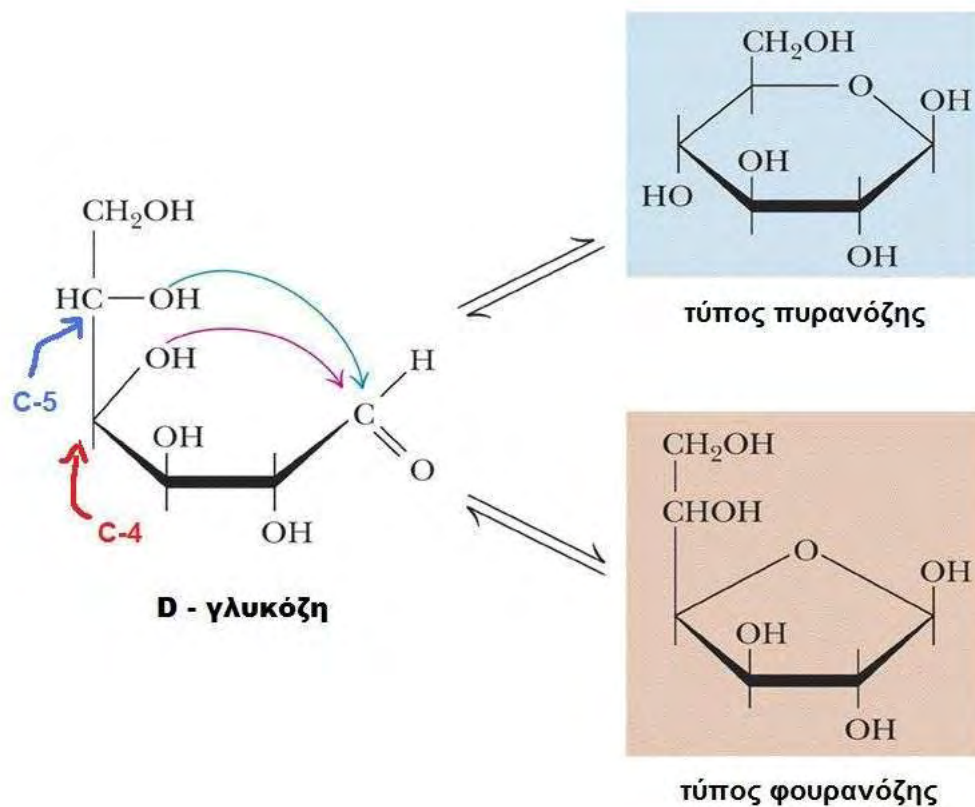
Δομή

Αρχικά γινόταν δεκτό ότι τα σάκχαρα είναι άκυκλες ενώσεις, γι'αυτό και συνηθιζόταν να γράφεται ο τύπος τους σε κατακόρυφη διάταξη, με την καρβονυλική ομάδα πρώτη (C-1, στις αλδόζες) ή δεύτερη (C-2, στις κετόζες), αρχίζοντας από το πάνω μέρος που προηγείται στην αρίθμηση του ανθρακικού σκελετού. Με τη δομή αυτή κάθε αλδόζη με n άτομα C έχει $n-2$ χειρόμορφα κέντρα (ασύμμετρα άτομα C) και κάθε κετόζη $n-3$. Η απλούστερη αλδόζη είναι η γλυκεραλδεϋδη, με ένα ασύμμετρο άτομο C, για την οποία τα εναντιομερή ονομάζονται D- και L-, σύμφωνα με την παλιά ονομασία, ή R- και S-, σύμφωνα με τη νεότερη. Όλα τα σάκχαρα που έχουν την ίδια στερεοχημική κατασκευή με τη D- γλυκεραλδεϋδη, δηλ. ως προς το προτελευταίο τους άτομο C, κατατάσσονται στη D- σειρά, ενώ αν η στερεοχημεία του ίδιου ατόμου μοιάζει με την L- γλυκεραλδεϋδη, πολύ σπάνια, ανήκουν στην L- σειρά. Η πρώτη κετόζη με χειρόμορφο C είναι η ερυθρουλόζη. Στη φύση συναντούμε τη γλυκόζη και τη φρουκτόζη, τα πιο διαδεδομένα απλά σάκχαρα, αποκλειστικά με τη D-μορφή τους, που βρίσκονται σε κάθε ζωντανό οργανισμό.



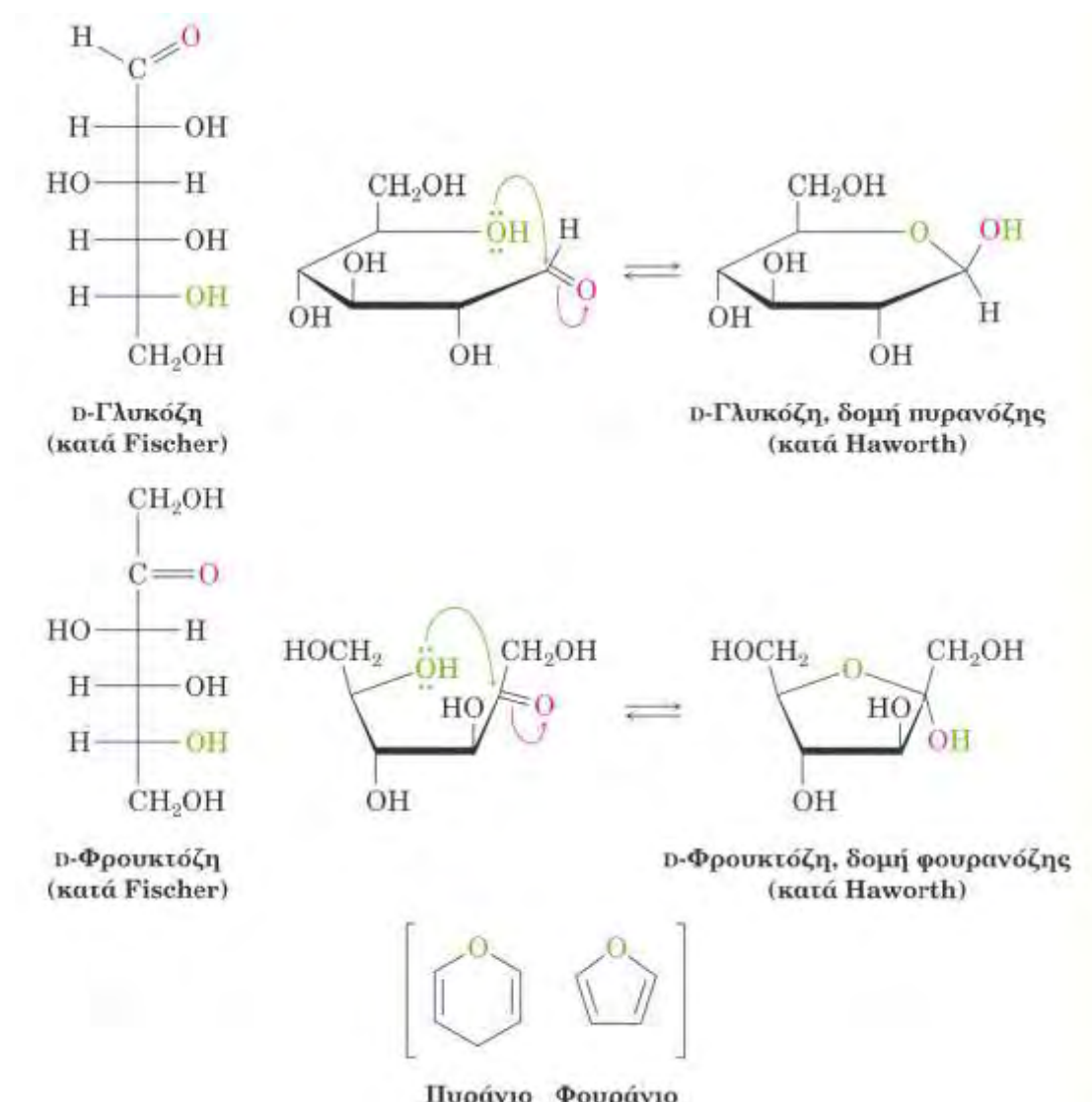
1.2 Κυκλικές δομές μονοσακχαριτών - Σχηματισμός ημιακετάλης

Επειδή στην πραγματικότητα η ανθρακική αλυσίδα δεν είναι ευθεία, μπορούμε εναλλακτικά να γράψουμε τους ίδιους τύπους με μια διαμόρφωση στην οποία τα ακραία άτομα πλησιάζουν (**κυκλική δομή**). Η δομή αυτή προκύπτει από τη δυνατότητα που έχει ένα υδροξύλιο να αντιδράσει ενδομοριακά με το καρβονύλιο του σακχάρου και να δώσει μια ετεροκυκλική ένωση που ανήκει στις **ημιακετάλες**. Η νέα αυτή μορφή είναι σταθερή στην κρυσταλλική κατάσταση, ενώ σε διάλυμα συνυπάρχουν σε ισορροπία η άκυκλη (σε αμελητέα συγκέντρωση) με την κυκλική μορφή, που επικρατεί. Στις αλδοεξόζες επικρατεί η κυκλική μορφή με εξαμελή δακτύλιο και οι δομές αυτές ονομάζονται **αλδοπυρανόζες**, ενώ στις κετόζες επικρατεί άλλοτε ο πενταμελής και άλλοτε ο εξαμελής δακτύλιος και οι δομές ονομάζονται **κετοφουρανόζες** ή **κετοπυρανόζες** (Εικόνα 1)

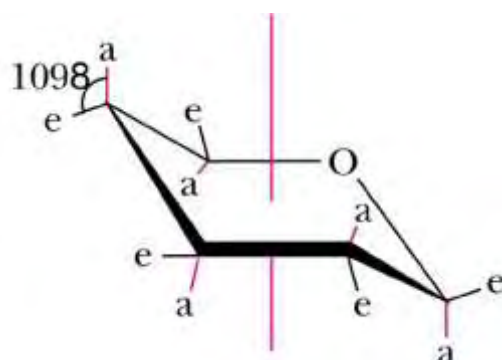


Εικόνα 1

Έτσι, η D-γλυκόζη απαντά σε δύο κυκλικές μορφές με εξαμελή δακτύλιο που είναι απομονώσιμες και για να διακριθούν από τα άλλα διαστεreoμερή καλούνται ανωμερή. Τα ανωμερή της γλυκόζης χαρακτηρίζονται ως α -D-γλυκόζη και β -D-γλυκόζη (ή πιο σωστά α -D-γλυκοπυρανόζη και β -D-γλυκοπυρανόζη). Ανάλογα ισχύουν και για τις δύο μορφές της D-φρουκτόζης, στην οποία επικρατεί ο πενταμελής οξυγονούχος δακτύλιος της φουρανόζης, καθώς και για όλα τα σάκχαρα (Εικόνα 2)



Εικόνα 2 (McMurry, John 2000, ΟΡΓΑΝΙΚΗ ΧΗΜΕΙΑ, ΤΟΜΟΣ II – ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΑΚΕΣ ΕΚΔΟΣΕΙΣ ΚΡΗΤΗΣ)



Εικόνα 3

Τόσο ο εξαμελής όσο και ο πενταμελής δακτύλιος δεν είναι επίπεδοι. Για παράδειγμα, η επικρατέστερη μορφή του πυρανικού δακτυλίου της D-γλυκόζης είναι του **ανακλίντρου** (Εικόνα 3) , οπότε τα υδροξύλια έχουν τη δυνατότητα να καταλάβουν είτε την αξονική (a- axial bond) είτε την ισημερινή

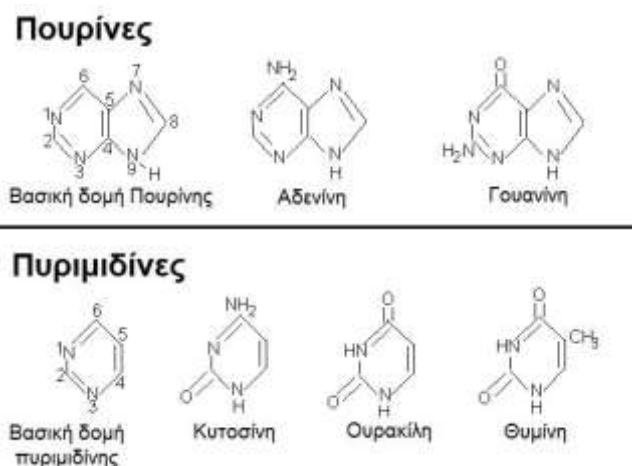
θέση (e- equatorial bond) (Εικόνα 4). (Α.Βάρβογλη (2005). *Επίτομη Οργανική Χημεία*, Εκδόσεις Ζήτη)



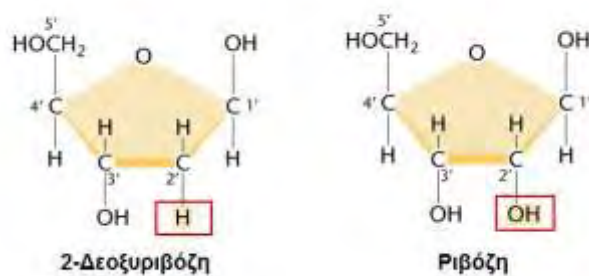
Εικόνα 4

1.3 Νουκλεοζίτες

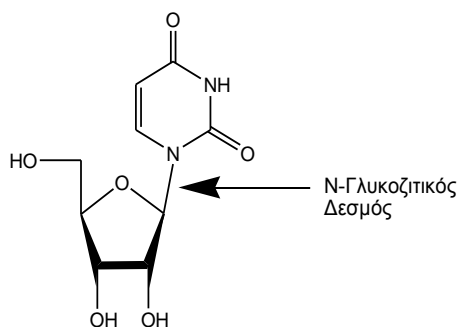
Οι νουκλεοζίτες προκύπτουν από την ένωση μιας βάσης με μία πεντόζη (υδατάνθρακας). Η βάση μπορεί να είναι μία πουρίνη (αδενίνη, γουανίνη) ή πυριμιδίνη (κυτοσίνη, θυμίνη, (στο DNA) ή ουρακίλη (στο RNA)) (Εικόνα 5). Η δε πεντόζη θα είναι είτε η *D*-ριβόζη (RNA) είτε η 2 δεοξυ-*D*-ριβόζη (DNA) (Εικόνα 6). Η σύζευξη συντελείται μέσω ενός μέσω β -*N*-γλυκοζιτικού δεσμού με το αναγωγικό υδροξύλιο της πεντόζης (του άνθρακα-1) (Εικόνα 7). Ουσιαστικά πρόκειται για νουκλεοτίδια χωρίς τις φωσφορικές τους ομάδες.



Εικόνα 5



Εικόνα 6

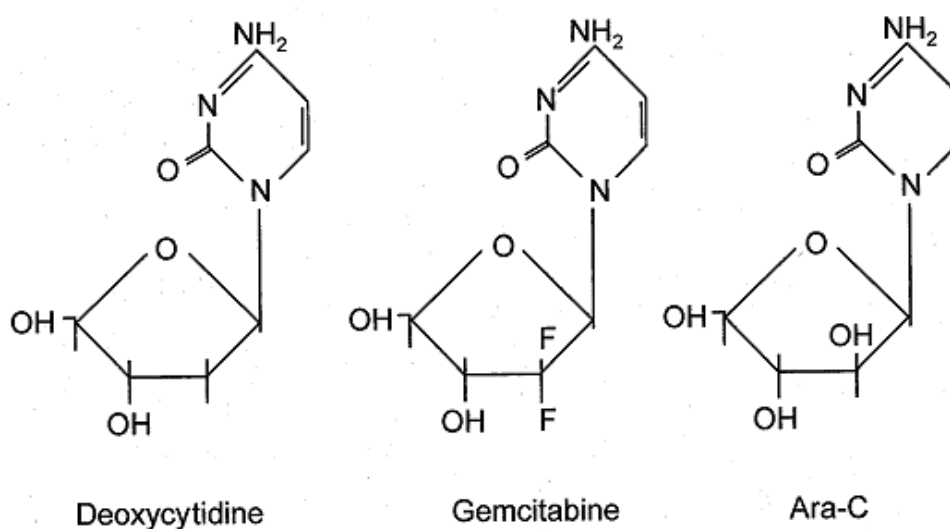


Εικόνα 7

Η παρασκευή τροποποιημένων νουκλεοζιτών, στη βάση ή/και στο σάκχαρο παρουσιάζει μεγάλο ερευνητικό ενδιαφέρον εξαιτίας της εμπλοκής τους στις διαδικασίες αντιγραφής και μεταγραφής βακτηριακών και ιικών γενομάτων και παρεμπόδισης πολλαπλασιασμού των καρκινικών κυττάρων.

1.4 Τρόπος δράσης νουκλεοζιτών

Η επιλεκτική παρέμβαση στη βιοσύνθεση των νουκλεοτιδίων αποτελεί βασικό στόχο θεραπευτικών στρατηγικών (αντικαρκινικά, αντιικά φάρμακα), επειδή τα ταχέως πολλαπλασιαζόμενα καρκινικά κύτταρα και οι ιοί συνθέτουν μεγαλύτερες ποσότητες DNA και RNA, άρα έχουν πολύ μεγαλύτερες απαιτήσεις σε νουκλεοτίδια από τα φυσιολογικά. Ο κύριος στόχος των τροποποιημένων νουκλεοζιτών είναι η διαδικασία αντιγραφής του των καρκινικού ή ιικού γενώματος. Οι τροποποιημένοι νουκλεοζίτες μπορούν να εισέλθουν στα κύτταρα με παθητική διάχυση. Βέβαια τα ανάλογα νουκλεοζιτών πρέπει να χορηγηθούν στη μη-φωσφορυλιωμένη τους μορφή, καθώς είναι ιδιαίτερα δύσκολο οι φωσφορυλιωμένοι νουκλεοζίτες (όντας φορτισμένοι) να διαπεράσουν την κυτταρική ή/και την πυρηνική μεμβράνη απουσία κάποιου ειδικού συστήματος μεταφοράς π.χ. μιας συγκεκριμένης πρωτεΐνης μεταφοράς. Τα νουκλεοσιδικά ανάλογα είναι στην πραγματικότητα προ-φάρμακα, δεδομένου ότι πρέπει να φωσφορυλιωθούν πριν μετατραπούν σε ενεργές ουσίες και αυτό αποτελεί το κλειδί για την επιλεκτικότητα τους. Η φωσφορυλίωσή τους κατόπιν ενδοκυτταρικά προς τις τρι-φωσφορικές τους μορφές (νουκλεοτίδια) καθιστά δυνατή την ενσωμάτωσή τους στην επι επιμηκυνόμενη αλυσίδα του DNA ή RNA προκαλώντας αναστολή της αντιγραφής του γενετικού υλικού.



Εικόνα 8: Ανάλογα πυριμιδινών

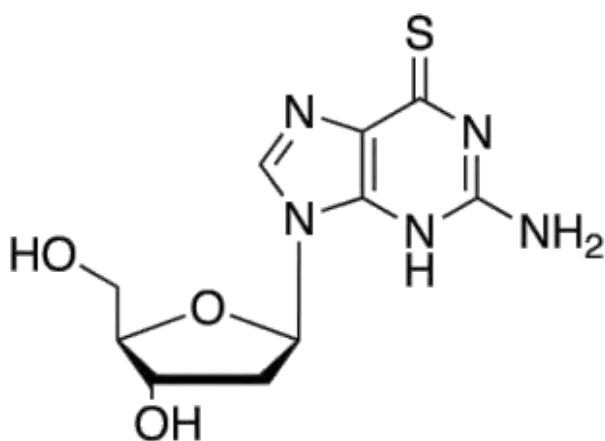
1.5 Αντικαρκινικά νουκλεοζιτικά ανάλογα

Οι καρκινικοί όγκοι χαρακτηρίζονται από κυτταρική διαίρεση και πολλαπλασιασμό, η οποία δεν είναι πλέον ελεγχόμενη από τους κανόνες ανάπτυξης, όπως είναι στους φυσιολογικούς ιστούς. Για παράδειγμα, τα "φυσιολογικά" κύτταρα σταματούν να διαιρούνται, όταν έρχονται σε επαφή με τα γειτονικά τους κύτταρα. Τα καρκινικά κύτταρα χάνουν αυτή την ικανότητα (και άλλες πολλές) και επομένως δεν υπακούουν πλέον σε κανέναν έλεγχο και δεν διατηρούν τις ισορροπίες της κυτταρικής διαίρεσης. Η ικανότητα της χημειοθεραπείας να σκοτώσει τα καρκινικά κύτταρα εξαρτάται από την ικανότητά της να σταματήσει την κυτταρική διαίρεση. Αν τα κύτταρα δεν είναι σε θέση να διαιρεθούν, θα πεθάνουν. Όσο πιο γρήγορα τα κύτταρα διαιρούνται, τόσο πιο πιθανό είναι η χημειοθεραπεία να τα σκοτώσει, κάνοντας τον όγκο να συρρικνωθεί.

Πολλά νουκλεοζιδικά ανάλογα παρασκευάζονται και στη συνέχεια αξιολογούνται ως προς τη βιολογική τους δράση με στόχο τη χρήση τους σαν αντιμεταβολίτες για την αντιμετώπιση διαφόρων μορφών καρκίνου. Οι αντιμεταβολίτες είναι χημικές ενώσεις οι οποίες προσομοιάζουν στα μόρια που χρησιμοποιεί το κύτταρο για σύνθεση του DNA (δρουν στη φάση S του κυτταρικού κύκλου). Οι αντιμεταβολίτες ενσωματώνονται στις κυτταρικές δομές ή αναστέλλουν ένζυμα απαραίτητα στο κύτταρο με αποτέλεσμα η κυτταρική διαίρεση να αναστέλλεται. Είναι ανάλογα των μορίων που συμμετέχουν στην σύνθεση των πουρινών και των πυριμιδινών. Στη συνέχεια παρατίθενται ορισμένα από τα

Αντιμεταβολίτες πουρινών

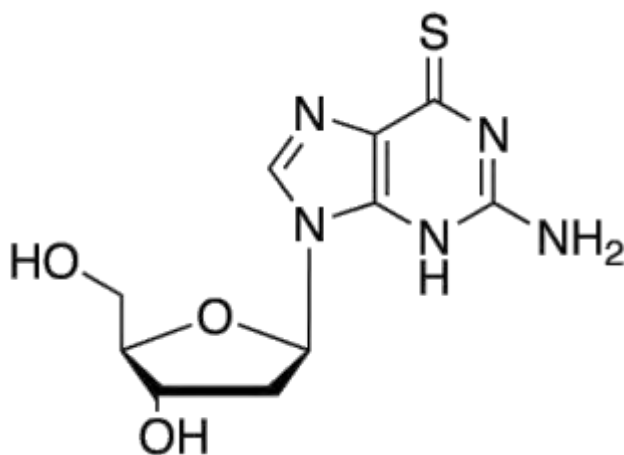
- **6-Μερκαπτοπουρίνη (6- MP) (Εικόνα 9).** Χρησιμοποιείται κατά κύριο λόγο για τη διατήρηση της ύφεσης στην οξεία λεμφοβλαστική λευχαιμία.



6 – mercaptopurine

Εικόνα 9

- **6-Θειογουανίνη (6-TG) (Εικόνα 10).** Χρησιμοποιείται κυρίως για τη θεραπεία της οξείας μη λεμφοκυτταρικής λευχαιμίας σε συνδυασμό με δαουνορουβικίνη και κυταραβίνη.

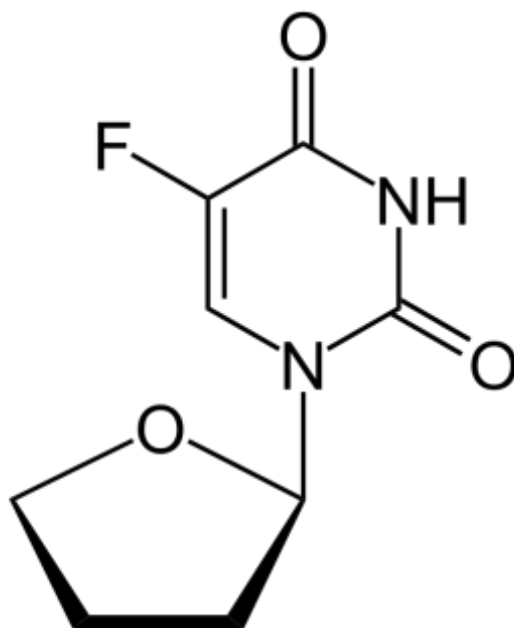


6-thioguanine

Εικόνα 10

Αντιμεταβολίτες πυριμιδινών

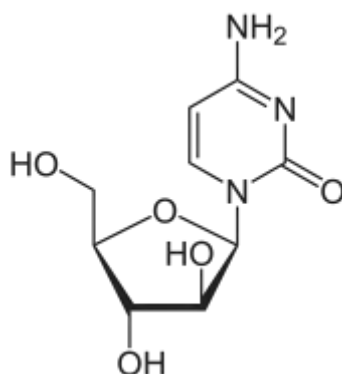
- **5-Φθοριοουρακίλη (5-FU) (Εικόνα 11).** Χρησιμοποιείται κυρίως για την αντιμετώπιση συμπαγών όγκων που αναπτύσσονται αργά (π.χ. καρκινώματα παχέος εντέρου και ορθού, μαστού, ωοθηκών, παγκρέατος και στομάχου).



5- fluorouracil

Εικόνα 11

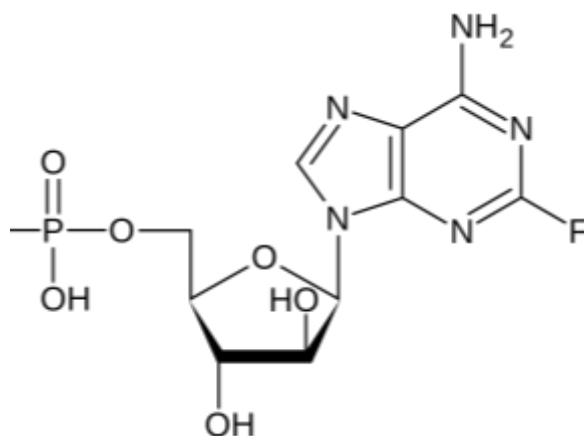
- **Κυταραβίνη (AraC) (Εικόνα 12).** Χρησιμοποιείται στην κλινική πράξη κυρίως για την αντιμετώπιση της οξείας μη λεμφοκυτταρικής (μυελογενούς) λευχαιμίας, σε συνδυασμό με 6-TG και δαουνουρβικίνη.



Cytarabine

Εικόνα 12

Φθοριοαραβίνη (FAMP) (Εικόνα 13). Είναχρήσιμη για την αντιμετώπιση της χρόνιας λεμφοκυτταρικής λευχαιμίας.



Fludarabine
Εικόνα 13

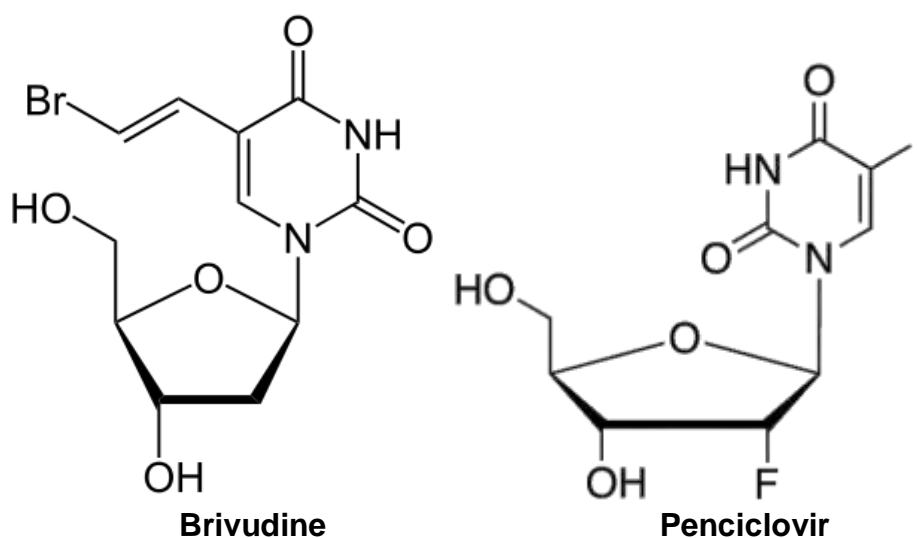
1.6 Αντιικά νουκλεοζιτικά ανάλογα

Οι νουκλεοζίτες και τα ανάλογά τους παρεμβαλλόμενα στην σύνθεση του DNA και του RNA μπορούν να επηρεάσουν εκτός από την σύνθεση νουκλεϊκών οξέων των καρκινικών κυττάρων και τους αντιγραφικούς και μεταγραφικούς μηχανισμούς πολλαπλασιασμού των ιών. Παρέχουν έτσι ένα αρκετά ενδιαφέρον σημείο εκκίνησης για την ανάπτυξη αντιικών φαρμάκων (Komiotis D. *et al*, 2008; Zhou W. *et al*, 2004; Perigaund C. *et al*, 1992).

Κύριος στόχος των νουκλεοζιτικών αναλόγων αποτελούν οι DNA πολυμεράσες των ιών που παρουσιάζουν επαρκή εξειδίκευση προς αυτά τα μόρια σε σχέση με τις αντίστοιχες πολυμεράσες των κυττάρων- ξενιστών (= χαμηλή τοξικότητα για τον ξενιστή). Αυτή λοιπόν η έλλειψη εξειδίκευσης του ιικού ενζύμου του επιτρέπει να δέχεται ως υποστρώματα και ανάλογα νουκλεοζιτών τα οποία και φωσφορυλιώνει με επιτυχία. Αντίθετα το ένζυμο του κυττάρου ξενιστή λόγω της μεγάλης εξειδίκευσης την οποία παρουσιάζει δεν φωσφορυλιώνει αυτούς τους νουκλεοζίτες. Καταστέλλεται έτσι η σύνθεση του DNA, παρεμβαίνοντας στον πολυμερισμό του DNA και τερματίζεται η επέκταση της αλυσίδας DNA (αντιγραφή του ιικού γενώματος).

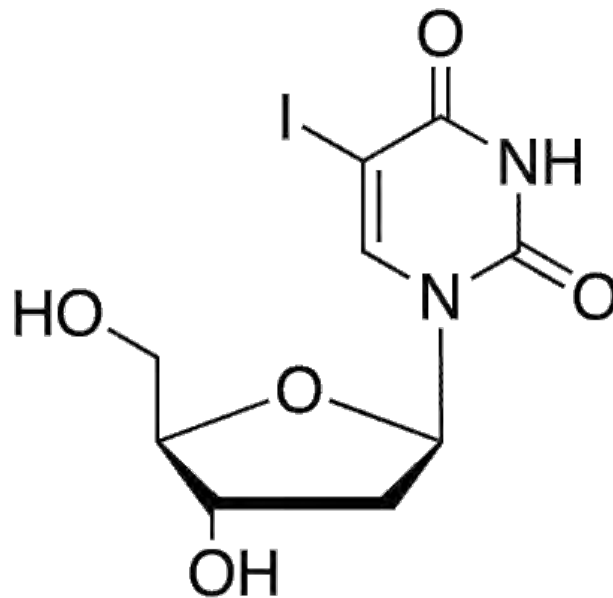
Παραδείγματα:

1) Ερπητοιοί (HSV 1-2)



Εικόνα 14

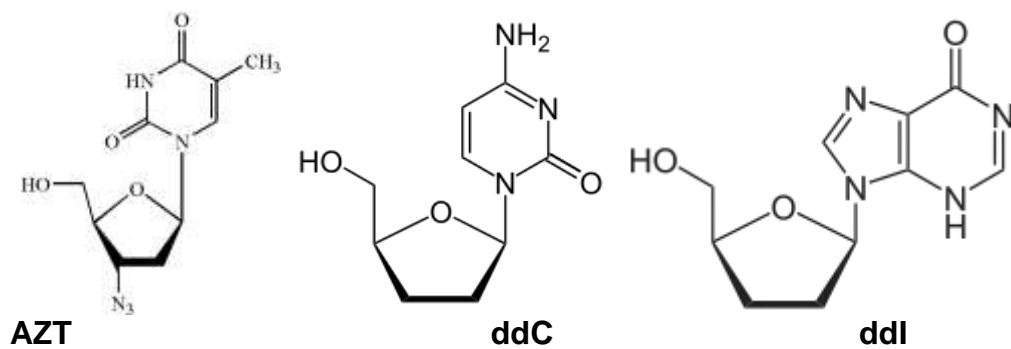
2) Ερπητική (HSV) κερατίτιδα



Iodo-deoxyuridine (Idoxuridine)

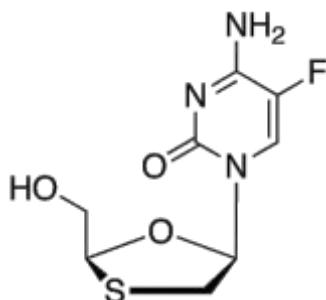
Εικόνα 15

3) Ιός της ανθρώπινης ανοσολογικής ανεπάρκειας (HIV)



Εικόνα 16

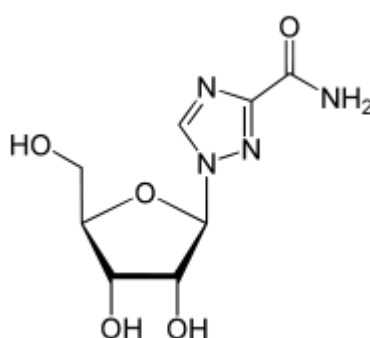
4) Ηπατίτιδας Β



Emtricitabine

Εικόνα 17

Τέλος αξίζει να αναφερθεί ότι υπάρχουν και ανάλογα νουκλεοζιτών που δρουν ως Αναστολείς της σύνθεσης του RNA (πολιοϊοί, ιός της γρίπης)/ Τέτοιος αναστολέας είναι η Ριμπαβιρίνη. Η καρβοξαμιδική ομάδα της ριμπαβιρίνης συμβάλλει ώστε το νουκλεοσίδιο να συμπεριφέρεται ως αδενοσίνη ή γουανοσίνη ανάλογα με την περιστροφή του μορίου. Για το λόγο αυτό, όταν η ριμπαβιρίνη ενσωματώνεται στο RNA, ως ανάλογο είτε της αδενίνης είτε της γουανίνης, ζευγαρώνει εξίσου καλά είτε με ουρακίλη είτε με κυτοσίνη, προκαλώντας μεταλλάξεις στην αντιγραφή των RNA ιών. Τέτοιες μεταλλάξεις κατά κανόνα είναι θανατηφόρες για τους RNA ιούς.



Ribavirin

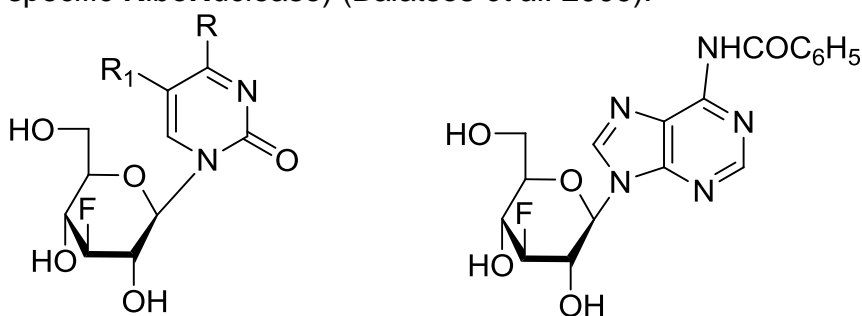
Εικόνα 18

1.7 Νουκλεοζιτικά ανάλογα με σάκχαρο μια εξόζη

Οι έρευνες που έχουν πραγματοποιηθεί μέχρι σήμερα με στόχο τη δημιουργία φαρμάκων με αντιϊική και αντικαρκινική δράση, αφορούσαν κυρίως στη χρήση νουκλεοζιτικών αναλόγων που έχουν ως σάκχαρο μία πεντόζη και φέρουν τη β-απεικόνιση. Η σπουδαιότητα των πεντοζών αναγνωρίστηκε από τη στιγμή που η ριβόζη και η δεοξυριβόζη ταυτοποιήθηκαν ως συστατικά των νουκλεϊκών οξέων. Όμως, ορισμένα προβλήματα που προέκυψαν από τη χρήση των φουρανονουκλεοζιτικών αναλόγων, όπως ο ανεπαρκής μεταβολισμός προς τις ενεργές τριφωσφορικές δομές τους, η χημική ή ενζυματική απενεργοποίησή τους, η τοξικότητα, η εμφάνιση νέων ανθεκτικών ιών και όγκων και τέλος ο μικρός χρόνος ημιζωής και κατά συνέπεια χρόνος δράσης τους, έστρεψαν το ενδιαφέρον των επιστημόνων στη μελέτη της αντικαρκινικής και αντιϊικής δράσης νέων νουκλεοζιτικών αναλόγων και ειδικότερα αυτών που φέρουν ως σάκχαρο μια εξόζη.

Θα πρέπει να τονιστεί ότι η έρευνα για την ανακάλυψη αντιϊικών και αντικαρκινικών νουκλεοζιτών με εξαμελή υδατανθρακικό δακτύλιο είχε μείνει αρκετά βήματα πίσω σε σχέση με αυτή των βιολογικώς ενεργών νουκλεοζιτών με τροποποιημένους πενταμελείς δακτυλίους.

Στο εργαστήριο της Βιο-Οργανικής χημείας του τμήματος Βιοχημείας και Βιοτεχνολογίας του Πανεπιστημίου Θεσσαλίας, έχουν συντεθεί φθοριωμένοι πυρανονουκλεοζίτες (Manta *et al.* 2007), οι οποίοι μειώνουν αποτελεσματικά τη δραστηριότητα της PARN, ένα ένζυμο-κλειδί στην αποικοδόμηση της πολυαδενυλικής ουράς (πολύ(A) ουράς) (Εικόνα 19). Τα συγκεκριμένα νουκλεοζιτικά ανάλογα μπορούν να χρησιμοποιηθούν ως πρότυπες ενώσεις για την ανάπτυξη νέων ενώσεων που θα μπορούν να ρυθμίζουν την PARN (Poly(A) specific RiboNuclease) (Balatsos *et al.* 2009).

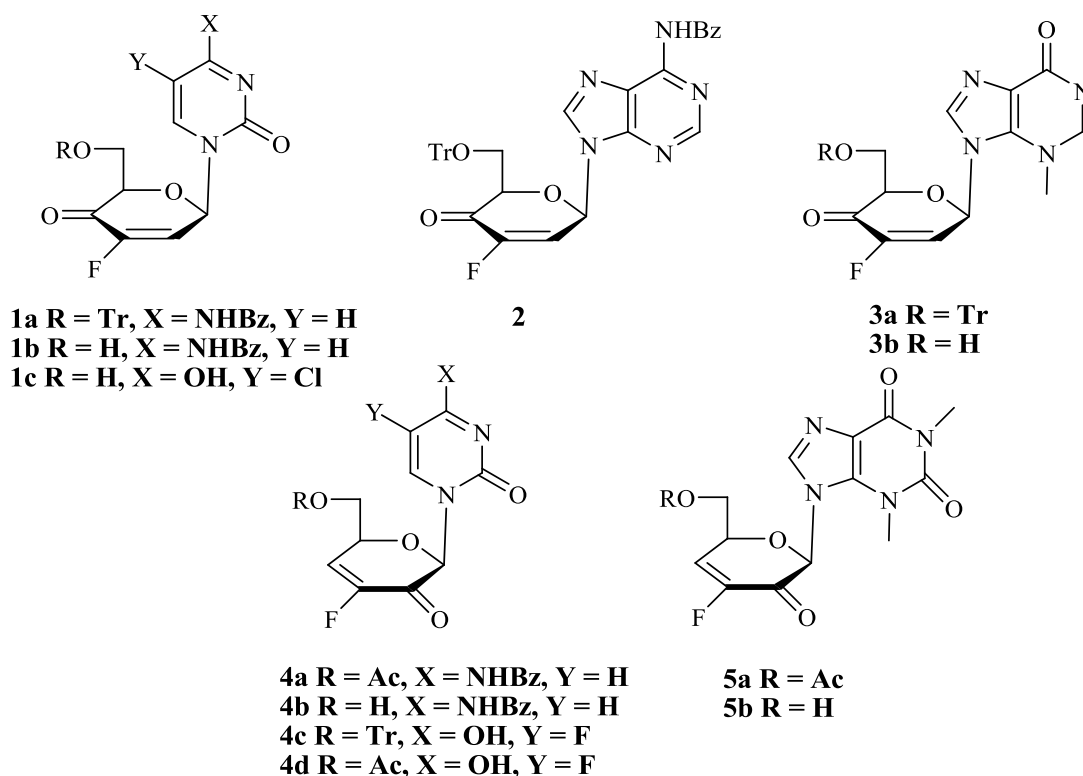


R = OH, R₁ = H
R = OH, R₁ = F
R = NH₂, R₁ = H
R = NHCOC₆H₅, R = H

Εικόνα 19

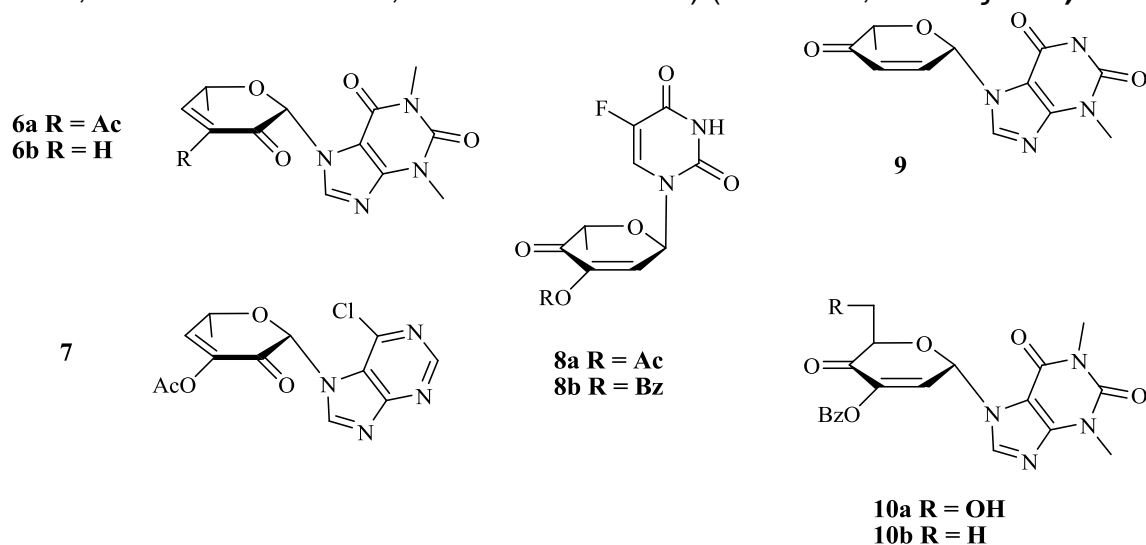
Ακόμη, φθοριωμένοι πυρανονουκλεοζίτες έχουν αξιολογηθεί και ως αναστολείς της φωσφορυλάσης του γλυκογόνου (GP), ένζυμο με κεντρικό ρόλο στον καταβολισμό του γλυκογόνου και υπεύθυνο για την παραγωγή γλυκόζης στο αίμα (γλυκογονόλυση). Η λεπτομερής ανάλυση των παραγόντων που καθορίζουν τη σύνδεση μικρομοριακών ενώσεων (αναστολέων) στη GP σε μοριακό επίπεδο, παρέχει τη δυνατότητα ελέγχου της ενζυμικής τους δράσης ή και της ανεπιθύμητης αποικοδόμησης γλυκογόνου, στο σακχαρώδη διαβήτη τύπου 2, όπου η υπεργλυκαιμία αποτελεί σοβαρό ιατρικό πρόβλημα. Συγκεκριμένα, φθοριωμένοι πυριμιδινικοί γλυκοπυρανονουκλεοζίτες καθώς και ένα φθοριωμένο δεοξυ-πυρανονουκλεοζιτικό ανάλογο της N^4 -βενζοϋλοκυτοσίνης αποδείχθηκαν ανταγωνιστικοί αναστολείς της φωσφορυλάσης του μυϊκού γλυκογόνου (GPb) (Tsirkone *et al.* 2010).

Ωστόσο, τα τελευταία χρόνια έχουν ανακαλυφτεί νέες σειρές βιολογικά ενεργών ακόρεστων νουκλεοζιδίων με εξαμελή υδατανθρακικό δακτύλιο. Οι ακόρεστοι φθορο-κετοπυρανονουκλεοζίτες, οι οποίοι συντέθηκαν στο εργαστήριο Οργανικής Χημείας του τμήματος Βιοχημείας και Βιοτεχνολογίας του Πανεπιστημίου Θεσσαλίας (Manta *et al.* 2007) καθώς και άλλοι ανάλογοι πυρανονουκλεοζίτες (Leclercq *et al.* 1992, Khan *et al.* 2001, Ollapally *et al.* 1999, Egron *et al.* 2002) έχουν αξιολογηθεί για τις αντιικές και τις αντικαρκινικές τους ιδιότητες (Εικόνα 20, ενώσεις **1-5**). Αξιοσημείωτη είναι η αντιική δράση εναντι του εντεροϊού (rotavirus), που επέδειξαν οι ενώσεις **1a,b**, **2** και **4a,b**.



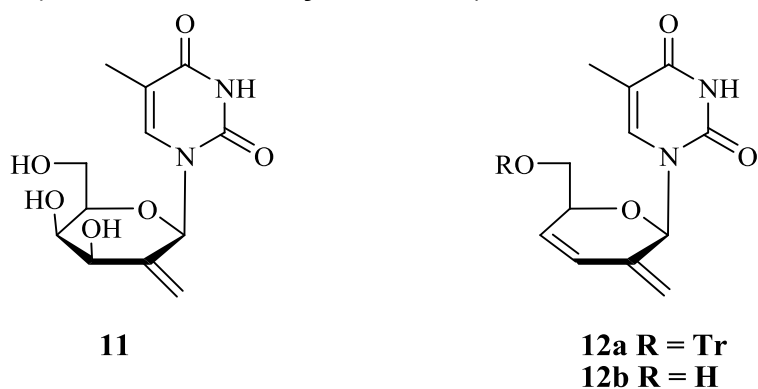
Εικόνα 20

Επιπρόσθετα, ακόρεστα κετοπυρανονουκλεοζιδικά ανάλογα παρουσίασαν, σε προηγούμενες μελέτες, σημαντική ανασταλτική δράση έναντι διαφόρων καρκινικών κυττάρων *in vitro* αλλά και *in vivo* (Komiotis et al. 1991, Patterson et al. 1998, Komiotis et al. 2008) (Εικόνα 21, ενώσεις **6-10**).



Εικόνα 21

Στο εργαστήριο Οργανικής Χημείας του τμήματος Βιοχημείας και Βιοτεχνολογίας συντέθηκε επίσης μια νέα ενδιαφέρουσα σειρά εξομεθυλενικών και ακόρεστων εξομεθυλενικών πυρανονουκλεοζιτών (Agelis et al. 2007), οι οποίοι επίσης παρουσίασαν σημαντική αντιική δράση έναντι του εντεροϊού (Εικόνα 22, ενώσεις **11** και **12α**).



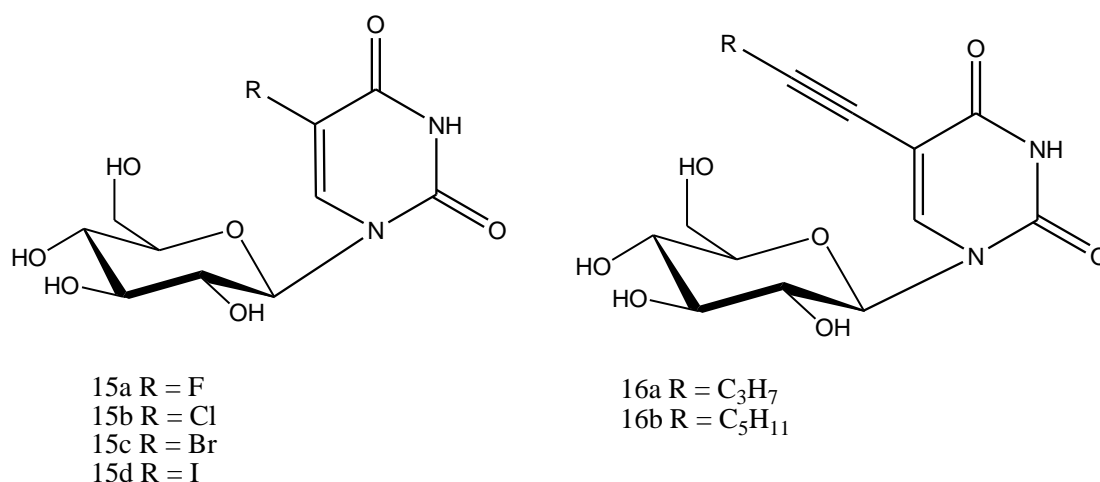
Εικόνα 22

2. ΕΙΔΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

2.1 Στόχος – σκοπός μελέτης

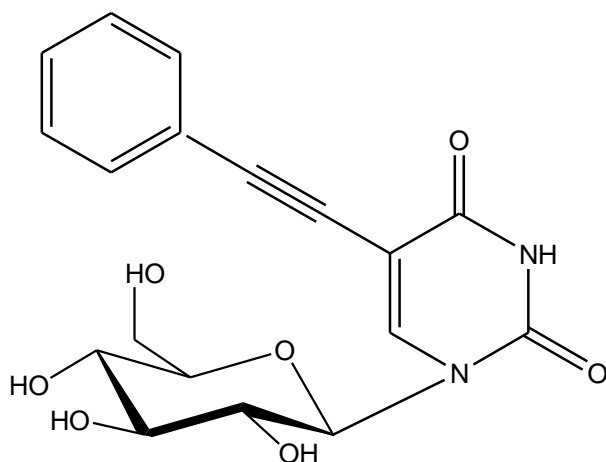
Αντικείμενο της παρούσας μεταπτυχιακής εργασίας είναι η σύνθεση τροποποιημένων πυρανονουκλεοζιτών στο τμήμα της ετεροκυκλικής βάσης, με σκοπό την εύρεση νέων αντικαρκινικών και αντιϊκών παραγόντων. Οι νέοι νουκλεοζίτες στοχεύουν στην κάλυψη της όλο και αυξανόμενης ανάγκης για φάρμακα με αυξημένη σταθερότητα και αποτελεσματικότητα, υψηλή βιοδιαθεσιμότητα και μειωμένες παρενέργειες και ανοσοκαταστολή.

Νουκλεοζιτικά ανάλογα, ως πιθανοί αναστολείς αναβολισμού νουκλεϊνικών οξέων, παίζουν ένα σημαντικό ρόλο στη θεραπεία των ασθενών με νεοπλασίες και καταστροφικές ιογενείς λοιμώξεις. Εκτεταμένες μετατροπές έχουν γίνει τόσο στην ετεροκυκλική βάση όσο και στο τμήμα του σακχάρου για την αναζήτηση αποτελεσματικών και επιλεκτικών παραγώγων με βελτιωμένη βιολογική δράση. Ιδιαίτερη προσοχή δόθηκε στους νουκλεοζίτες με τροποποιημένη βάση, καθώς είναι γνωστό ότι οι C5-υποκατεστημένοι νουκλεοζίτες πυριμιδίνης έχουν ενδιαφέρουσες βιολογικές ιδιότητες, (αντιϊκές και αντικαρκινικές). Έτσι έχει ήδη πραγματοποιηθεί στο εργαστήριό μας η σύνθεση των C5-αλογονο- και C5-αλκυνο-γλυκοπυρανονουκλεοζιτών της ουρακίλης (ενώσεις 15 και 16, αντίστοιχα, Εικόνα 23), οι οποίοι έχουν εμφανίσει αξιοσημείωτες κυτταροτοξικές ιδιότητες και επιπλέον έχουν αποδειχθεί ισχυροί αναστολείς της φωσφορυλάσης του γλυκογόνου.



Εικόνα 23

Το πιο αποτελεσματικό ανάλογο έναντι της ανάπτυξης τριών καρκινικών κυτταρικών σειρών (L121O, CEM, HeLa) αποδείχθηκε ο νουκλεοζίτης που φέρει φαινολικό δακτύλιο στην 5-θέση της ουρακίλης, παρουσιάζοντας IC₅₀ ≈ 5- 6 μM (Εικόνα 24).



Εικόνα 24

Βασιζόμενοι στην αξιοσημείωτη δράση του ανωτέρω πυρανονουκλεοζίτη και ως συνέχεια του μακροπρόθεσμου ενδιαφέροντός μας στους τροποποιημένους στην ετεροκυκλική βάση πυρανονουκλεοζίτες, θεωρήσαμε ενδιαφέρουσα την εισαγωγή διαφόρων υποκαταστατών στο φαινολικό δακτύλιο καθώς και την μερική και πλήρη αναγωγή των τριπλών δεσμών αυτών των τροποποιημένων πυρανονουκλεοζιτών με στόχο τη δημιουργία νέων αποτελεσματικότερων παραγόντων. Στην παρούσα εργασία αναφέρουμε τη σύζευξη διαφόρων υποκαταστατών με το φαινολικό δακτύλιο των πυρανονουκλεοζιτών της 5F-ουρακίλης. Η σύζευξη αυτή, γνωστή ως αντίδραση Sonogashira, επιτεύχθηκε με μια αποτελεσματική και εξαιρετικά ταχεία και υψηλής απόδοσης μεθοδολογία υποβοηθούμενη από μικροκύματα. Συγκεκριμένα πραγματοποιήθηκε η εισαγωγή φθορίου και χλωρίου στη θέση-2 του φαινολικού δακτυλίου. Στη συνέχεια επιχειρήθηκε η μερική και πλήρης αναγωγή του τριπλού δεσμού των μορίων αυτών. Επιπλέον μελετήθηκε η κυτταροτοξική δράση των νεοσυντιθέμενων ενώσεων τόσο των ακετυλιωμένων όσο και των αντίστοιχων αποπροστατευμένων.

Το φθόριο και το χλώριο ανήκουν στα στοιχεία της ομάδας των αλογόνων (ομάδα 7A του περιοδικού πίνακα). Παρουσιάζουν μεγάλη δραστηριότητα εξαιτίας της διαμόρφωσης της εξωτερικής τους στιβάδας που απαιτεί την πράσληψη ενός μόνο ηλεκτρονίου για την απόκτηση της σταθερής δομής ευγενούς αερίου. Έτσι τα αλογόνα, ιδιαίτερα το φθόριο (και αμέσως μετά το χλώριο) είναι ισχυρά οξειδωτικά μέσα.

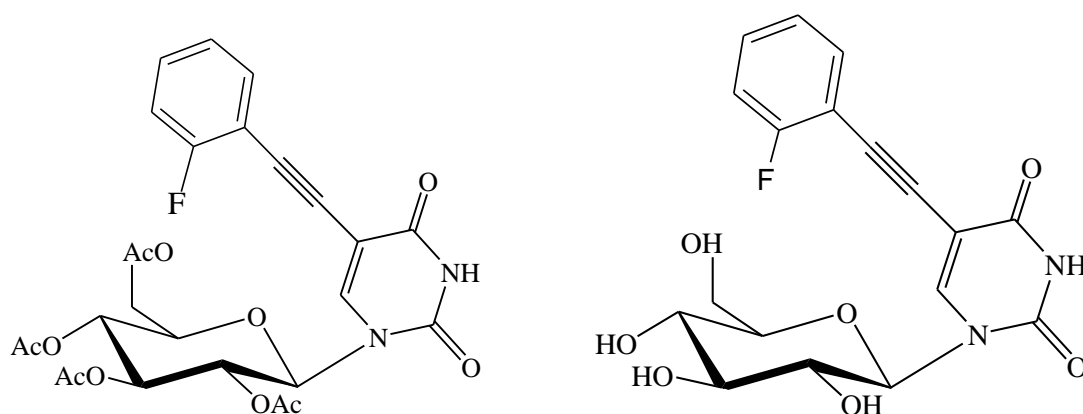
Το φθόριο είναι απαραίτητο ιχνοστοιχείο του ανθρώπινου οργανισμού. Συναντάται σε ελάχιστη ποσότητα στα οστά, τα δόντια και τους ιστούς. Η δράση του δεν είναι πλήρως κατανοητή αλλά πιστεύεται ότι ενσωματώνεται στα οστά, όπως το ασβέστιο. Θεωρείται ότι σταθεροποιεί το σκελετό και

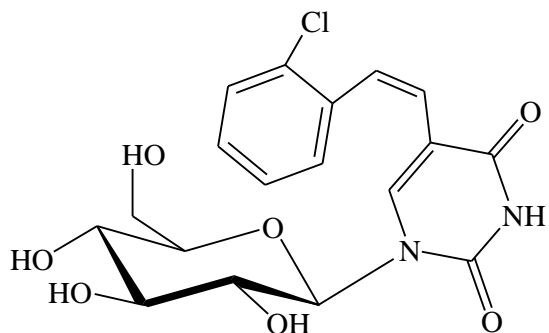
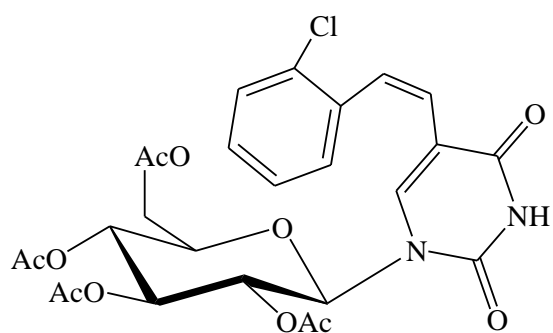
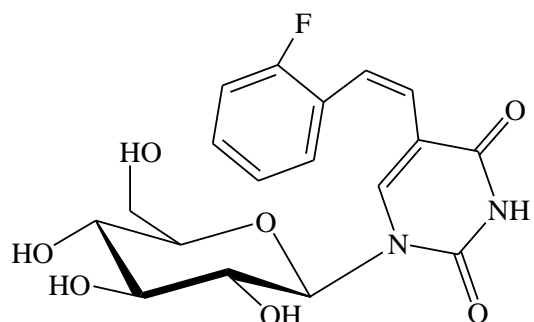
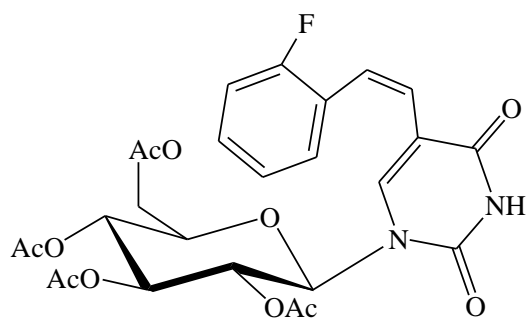
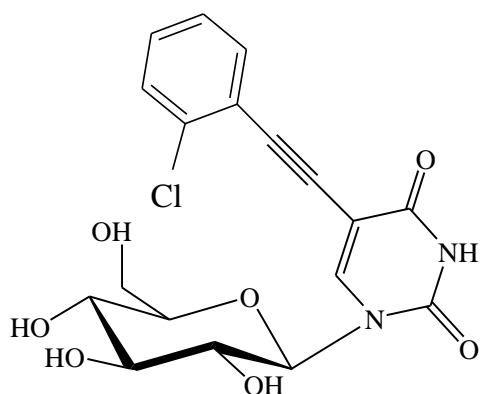
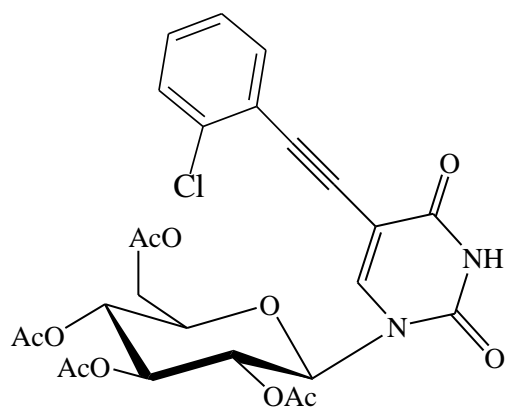
βοηθά στην πρόληψη της οστεοπόρωσης. Ως ιόν (F^-) έχει διαπιστωθεί ότι εμφανίζει προστατευτική δράση στα δόντια έναντι της τερηδόνας (ιδίως σε νεαρά άτομα).

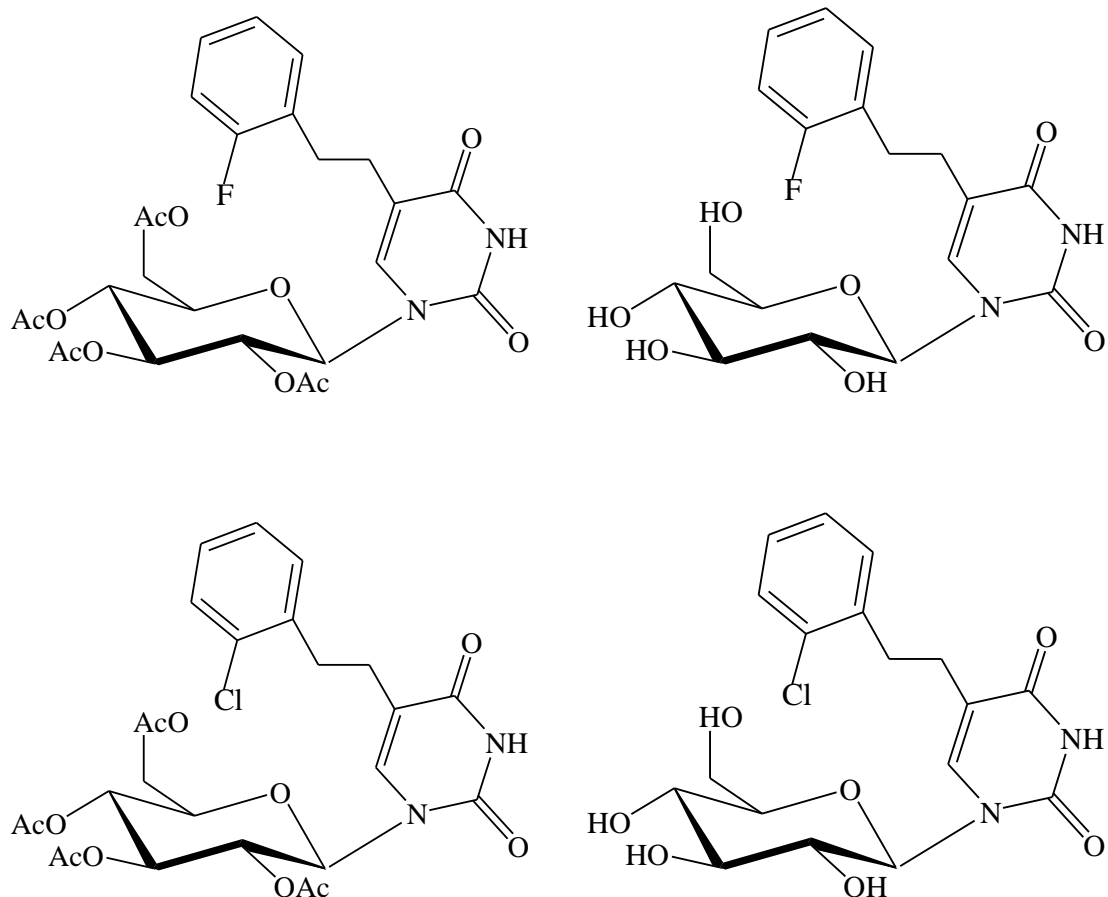
Το χλώριο υπό την μορφή ιόντων (Cl^-) είναι επίσης σημαντικό συστατικό του σώματος. Το ανθρώπινο σώμα περιέχει περίπου 115 g Cl^- . Βρίσκεται στο στόμαχο υπό την μορφή υδροχλωρικού οξέος (HCl) ενώ αποτελεί το κύριο συστατικό του εξωκυττάριου υγρού. Τα επίπεδα χλωρίου έχουν αντίστροφη σχέση με εκείνα των διττανθρακικών, αντανakλώντας έτσι την οξεοβασική κατάσταση. Το χλώριο έχει διάφορες λειτουργίες, συμπεριλαμβανομένης της διατήρησης ηλεκτρικής ουδετερότητας με την εξουδετέρωση των κατιόντων όπως το νάτριο (Na^+), ενεργώντας ως ένα στοιχείο του ρυθμιστικού συστήματος του pH, βοηθώντας στην πέψη και επίσης βοηθώντας στο να διατηρηθεί η οσμωτική πίεση και το υδατικό ισοζύγιο. Χαμηλά επίπεδα Cl^- διαπιστώνονται σε εμπύρετες καταστάσεις και στο διαβήτη, ενώ υψηλά επίπεδα παρατηρούνται σε αναιμία καθώς και σε καρδιακές και νεφρικές παθήσεις.

Η προσθήκη φθορίου ή χλωρίου ή φθοριομένων/ χλωριομένων λειτουργικών ομάδων σε ένα οργανικό μόριο, συνήθως το κάνει λιπόφιλο κι αυτόματα μπορεί να του χαρίσει απο ενδιαφέρουσες μέχρι πολύτιμες ιδιότητες. Όπως είναι η καλύτερη απορρόφηση και κατανομή στους ιστούς ενός οργανισμού όπως επίσης και η άμεση διαπερατότητα του αιματοεγκεφαλικού φραγμού που προστατεύει τον εγκέφαλό μας από πολλά, αλλά αφήνει τα λιπόφιλα μόρια να διέρχονται. Οι δεσμοί άνθρακα φθορίου (C-F) και άνθρακα – χλωρίου (C-Cl) είναι πιο δυνατοί από το δεσμό άνθρακα υδρογόνου (C-H). Με τον τρόπο αυτό μπορεί να αδρανοποιήσουν τα ηπατικά ένζυμα μεταβολισμού, που στη συνέχεια θα δεχτούν την φαρμακευτική ουσία αυξάνοντας μ' αυτόν τον τρόπο την βιοδιαθεσιμότητα της, δηλαδή το ποσοστό του αρχικού μορίου που φτάνει στην κυκλοφορία του αίματος και κατά συνέπεια στα στοχοποιημένα άρρωστα όργανα ώστε να τα θεραπεύσει. Ένας μεγάλος αριθμός φαρμακευτικών προϊόντων περιέχουν αλογόνα και συγκεκριμένα το φθόριο και χλώριο

Οι δομές των μορίων που στόχευσε η συνθετική μας πορεία παρουσιάζονται στην παρακάτω εικόνα (Εικόνα 25) :







Εικόνα 25

3. ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ

3.1 ΥΛΙΚΑ ΣΥΝΘΕΣΗΣ ΝΟΥΚΛΕΟΖΟΤΙΚΩΝ ΑΝΑΛΟΓΩΝ

Για την σύνθεση των νουκλεοζιτικών αναλόγων χρησιμοποιήθηκαν αντιδραστήρια των παρακάτω εταιριών, των οποίων η καθαρότητα ήταν αναλυτικού βαθμού:

- ⇒ Οξικός ανυδρίτης (Ac_2O) (Aldrich, Γερμανία)
- ⇒ Πυριδίνη (Panreac, Ισπανία)
- ⇒ Διάλυμα Μεθανόλης (MeOH) (Merck, Γερμανία)
- ⇒ Hexamethyldisilazane (HMDS) (Aldrich, Γερμανία)
- ⇒ Trimethylsilyltrifluoromethane ($\text{Me}_3\text{SiOSO}_2\text{CF}_3$) (Alfa Aesar, Γερμανία)
- ⇒ Υδρίδιο του ασβεστίου (CaH) (Fluca, Γερμανία)
- ⇒ Ακετονιτρίλιο (CH_3CN) (Merck, Γερμανία)
- ⇒ Πεντοξείδιο του φωσφόρου (P_2O_5) (Alfa Aesar, Γερμανία)
- ⇒ Κορεσμένο sodium bicarbonate (NaHCO_3) (Merck, Γερμανία)
- ⇒ Κορεσμένο sodium bisulfate (NaHSO_4) (Merck, Γερμανία)
- ⇒ Άνυδρο θειικό νάτριο (Na_2SO_4) (Merck, Γερμανία)

3.2 ΓΕΝΙΚΗ ΜΕΘΟΔΟΛΟΓΙΑ

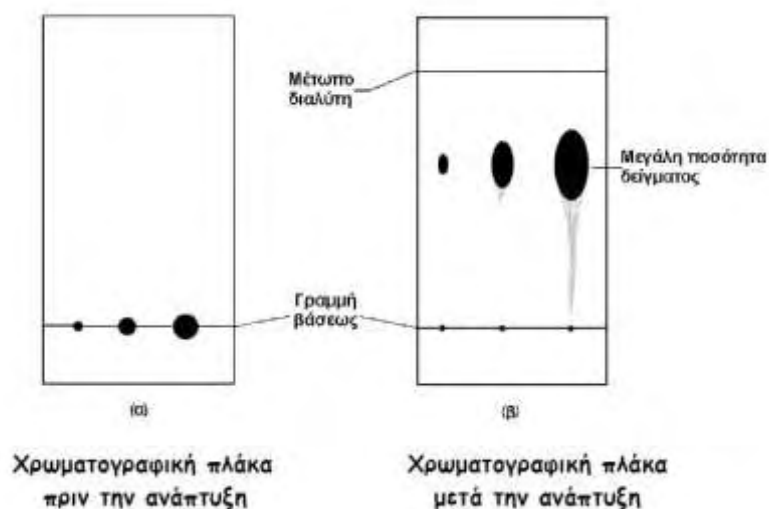
3.2.1 Χρωματογραφία λεπτής στιβάδας (TLC : Thin Layer Chromatography)

Ο έλεγχος των αντιδράσεων πραγματοποιήθηκε μέσω της χρωματογραφικής μεθόδου TLC, όπου χρησιμοποιήθηκαν πλάκες αλουμινίου επιστρωμένες με Silica gel (Merck Kieselgel 60F₂₅₄) πάχους 0.2 mm. Το διάλυμα του υπό εξέταση δείγματος τοποθετείται υπό τη μορφή κηλίδας στην αρχή της πλάκας σε απόσταση περίπου 1,5 - 2 cm. Στη συνέχεια η πλάκα τοποθετείται όρθια εντός αεροστεγούς θαλάμου στον οποίο έχει ήδη εισαχθεί κατάλληλο σύστημα διαλυτών σε ύψος κάτω από αυτό της κηλίδας. Ο θάλαμος ο οποίος χρησιμοποιείται στη χρωματογραφία λεπτής στιβάδας αποτελείται από υάλινο δοχείο με κάλυμμα (δοχείο ανάπτυξης). Μέσα στο δοχείο τοποθετείται ο διαλύτης (στιβάδα διαλύτη 0.5 cm το πολύ) και το δοχείο κλείνεται ώστε να επιτευχθεί κορεσμός του χώρου από τους ατμούς του διαλύτη. Η τοποθέτηση του δείγματος στο πλακίδιο γίνεται με τριχοειδές σωληνάκι, υπό μορφή κηλίδας. Επάνω στο ίδιο πλακίδιο μπορούν να τοποθετηθούν περισσότερες από μία κηλίδες (διαφορετικών δειγμάτων) στο ίδιο ύψος από τη βάση του πλακιδίου και σε ίσες αποστάσεις μεταξύ τους (1-1.5cm). Μετά την ξήρανση της κηλίδας το πλακίδιο τοποθετείται στο δοχείο ανάπτυξης. Ο διαλύτης ανάπτυξης ανεβαίνει στο πλακίδιο αργά-αργά λόγω τριχοειδών φαινομένων συμπαρασύροντας και τα συστατικά του δείγματος σε διαφορετικές αποστάσεις (ανάπτυξη χρωματογραφήματος). Όταν το μέτωπο ανάπτυξης του διαλύτη πλησιάζει το επάνω άκρο του πλακιδίου τότε αυτό απομακρύνεται από το θάλαμο ανάπτυξης και σημειώνεται το μέτωπο του διαλύτη με μολύβι. Μετά την ανάπτυξη του χρωματογραφήματος, το πλακίδιο ξηραίνεται (με ρεύμα αέρα) και ακολουθεί ο προσδιορισμός των θέσεων των κηλίδων. Η διαδικασία αυτή ονομάζεται εμφάνιση του χρωματογραφήματος. Είναι σημαντικό να τονιστεί ότι οι κηλίδες πρέπει να είναι όσο το δυνατόν μικρές και να προέρχονται από αραιά διαλύματα των δειγμάτων (~1-1.5%), έτσι ώστε μετά την εμφάνιση του χρωματογραφήματος να μην παρατηρούνται ουρές κάτω από τις κηλίδες ή υπερκάλυψη αυτών. Τα χρωματογραφήματα εμφανίζονται με ψεκασμό με διάλυμα θειικού οξέος (H₂SO₄) 30%, ενώ άλλοτε οι κηλίδες των χρωματογραφημάτων (TLC) είναι ορατές υπό λυχνία υπεριώδους (UV) στα 254 nm (Εικόνα 26).

Συντελεστής R_f: Ο βαθμός συγκράτησης μιας ουσίας στην χρωματογραφία εκφράζεται με τον παράγοντα επιβράδυνσης R_f, ο οποίος ορίζεται ως ο λόγος της αποστάσεως που κινήθηκε η ουσία προς την απόσταση που κινήθηκε ο διαλύτης. Η απόσταση που κινήθηκε ο διαλύτης μετρείται από τη θέση του μετώπου, ενώ η απόσταση του δείγματος μετρείται από το κέντρο της κηλίδας ή από το σημείο που αντιστοιχεί στη μέγιστη πυκνότητά της. Η τιμή του R_f επηρεάζεται από πολλούς παράγοντες, όπως π.χ. από τη σύσταση του διαλύτη αναπτύξεως, από τη φύση του υλικού επίστρωσης, κ.ά. Σε καθορισμένες όμως συνθήκες αποτελεί χαρακτηριστική σταθερά και μπορεί

να χρησιμοποιηθεί για την ταυτοποίηση μιας άγνωστης ουσίας, συγκρίνοντας την τιμή του R_f αυτής με τις τιμές των R_f γνωστών ουσιών στις ίδιες συνθήκες.

$$R_f = \frac{\text{απόσταση διανυθείσα από τη ουσία}}{\text{απόσταση διανυθείσα από το διαλύτη αναπτύξεως}}$$



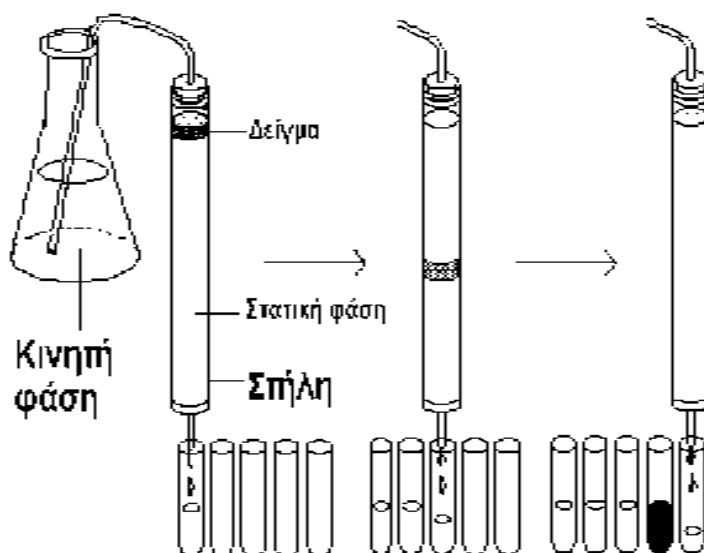
Εικόνα 26

Οι χρωματογραφίες διεκπεραιώθηκε χρησιμοποιώντας τα παρακάτω συστήματα διαλυτών :

- Διάλυμα Α : οξικός αιθυλεστέρας/εξάνιο 80/20
- Διάλυμα Β : οξικός αιθυλεστέρας/εξάνιο 50/50
- Διάλυμα Γ : οξικός αιθυλεστέρας/εξάνιο 90/10
- Διάλυμα Δ : διχλωρομεθάνιο /μεθανόλη 80/20
- Διάλυμα Ε : διχλωρομεθάνιο /μεθανόλη 90/10

3.2.2 Χρωματογραφία στήλης

Η χρωματογραφία στήλης είναι μια τεχνική διαχωρισμού που βασίζεται στην προσρόφηση των συστατικών ενός δείγματος πάνω σε μια ακίνητη φάση, συνήθως silica gel και την έκλουση τους με μια κινητή φάση, που είναι ένας διαλύτης ή μείγμα διαλυτών. Οι πολικές ουσίες προσροφούνται ή κολλούν στην αφετηρία (κορυφή) της στήλης και χρειάζονται πιο πολικό διαλύτη για να προχωρήσουν. Οι άπολες ουσίες συνήθως προχωρούν ή κατεβαίνουν πιο εύκολα ακόμη και με διαλύτες χαμηλής πολικότητας. Για την έκλουση των ουσιών από το silica gel χρειάζεται να γίνει έκλουση της στήλης με διάφορους διαλύτες αρχίζοντας με τους λιγότερο πολικούς και καταλήγοντας στους περισσότερο πολικούς. Διαχωρισμοί, σε παρασκευαστική κλίμακα, με αυτή την τεχνική επιτυγχάνονται με τοποθέτηση της ουσίας σε μία κυλινδρική στήλη, η οποία πληρώνεται με στερεή στατική φάση, δια μέσου της οποίας περνά η κινούμενη υγρή φάση είτε λόγω βαρύτητας είτε με μικρή πίεση (flash chromatography) (Εικόνα 27).



Εικόνα 27

Για τον καθαρισμό των προϊόντων στη συγκεκριμένη περίπτωση χρησιμοποιήθηκε χρωματογραφία στήλης με εισαγωγή αέρα υπό πίεση (flash chromatography), η οποία στήλη πληρώθηκε με silica gel (240-400 mesh) της εταιρίας E. Merck. Οι διαλύτες έκλουσης που χρησιμοποιήθηκαν είναι οι εξής :

- Διάλυμα Α: διχλωρομεθάνιο / οξικός αιθυλεστέρας 90/10
- Διάλυμα Β: διχλωρομεθάνιο / οξικός αιθυλεστέρας 80/20
- Διάλυμα Γ: διχλωρομεθάνιο / μεθανόλη 80/20
- Διάλυμα Δ: οξικός αιθυλεστέρας/εξάνιο 50/50
- Διάλυμα Ε: διχλωρομεθάνιο / μεθανόλη 70/30

3.2.3 Ξήρανση διαλυτών

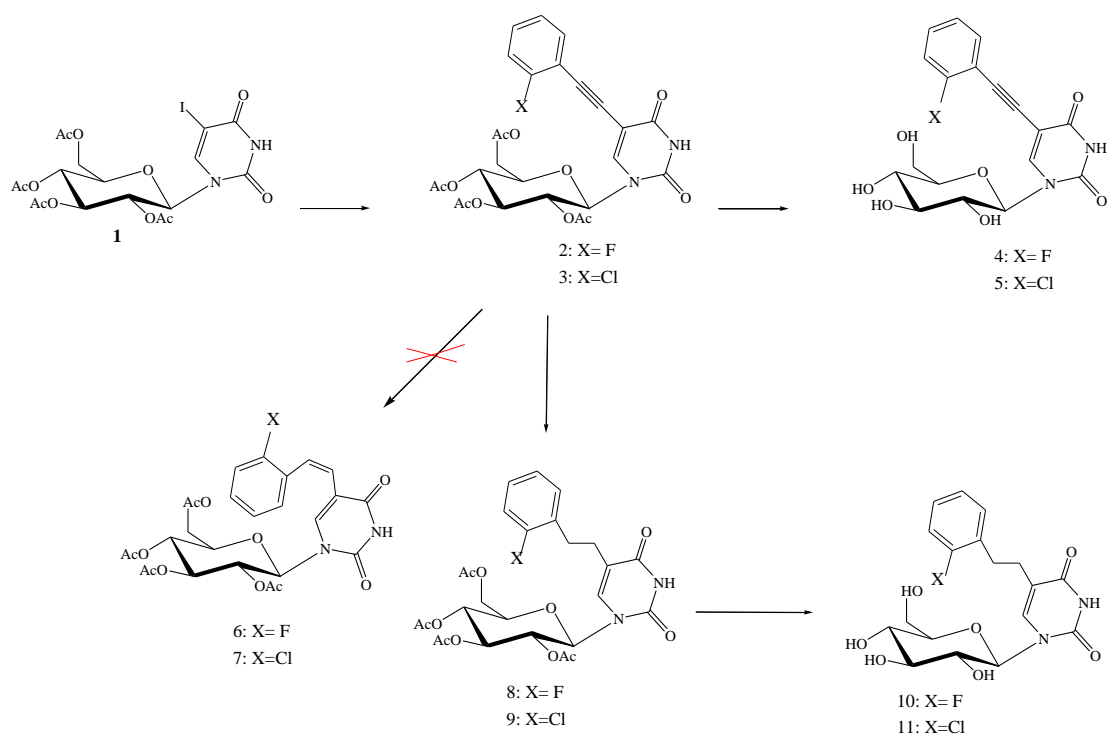
Για την πραγματοποίηση ορισμένων αντιδράσεων, απαιτείται η χρήση άνυδρων διαλυτών όπως ακετονιτρίλιο και τολουόλιο. Η ξήρανση του ακετονιτρίλιου και του τολουολίου γίνεται παρουσία υδριδίου του ασβεστίου με θέρμανση σε κάθετο ψυκτήρα υπό αναβρασμό κατά τη διάρκεια μιας νύχτας. Κατόπιν πραγματοποιείται απόσταξη υπό άζωτο και το απόσταγμα συλλέγεται σε φιάλη με μοριακά κόσκινα 3Å (molecular sieves).

3.2.4 Ταυτοποίηση ενώσεων

Η ταυτοποίηση των ενώσεων που συντέθηκαν έγινε με τη χρήση του φάσματος πυρηνικού μαγνητικού συντονισμού NMR (Nuclear Magnetic Resonance). Ο πυρηνικός μαγνητικός συντονισμός είναι ένα φαινόμενο που παρατηρείται όταν πυρήνες ορισμένων ατόμων τοποθετούνται εντός ενός ομογενούς, στατικού μαγνητικού πεδίου και διεγείρονται από ένα δεύτερο ταλαντευόμενο μαγνητικό πεδίο. Όταν η συχνότητα του ταλαντευόμενου πεδίου ρυθμιστεί ώστε να ταιριάζει με τη συχνότητα μετάπτωσης Larmor, μια ροπή δύναμης που δρά πανω στις περιστρεφόμενες μαγνητικές ροπές, τις κάνει να « χοροπηδούν» μεταξύ των δύο καταστάσεων σπίν. Αυτές οι μεταβάσεις έχουν σαν αποτέλεσμα μια καθαρή απορρόφηση ενέργειας από το σύστημα σπίν η οποία μπορεί να ανιχνευθεί ηλεκτρονικά. Τα φάσματα ^1H NMR μετρήθηκαν με το φωτόμετρο Bruker 300 MHz χρησιμοποιώντας δευτεριωμένο χλωροφόρμιο (CDCl_3) και δευτεριωμένη μεθανόλη (MEOD). Το τετραμεθυλοσιλάνιο (TMS) χρησιμοποιήθηκε ως σημείο αναφοράς για ^1H . Η πολλαπλότητα των καμπύλων φαίνεται με s (single), d (doublet), dd (doublet doublet), dt (doublet triplet), m (multiplet). Οι σταθερές σύζευξης J μετρήθηκαν σε Hz.

3.3 ΜΕΘΟΔΟΙ

3.3.1 Επισκόπηση της συνθετικής οδού.



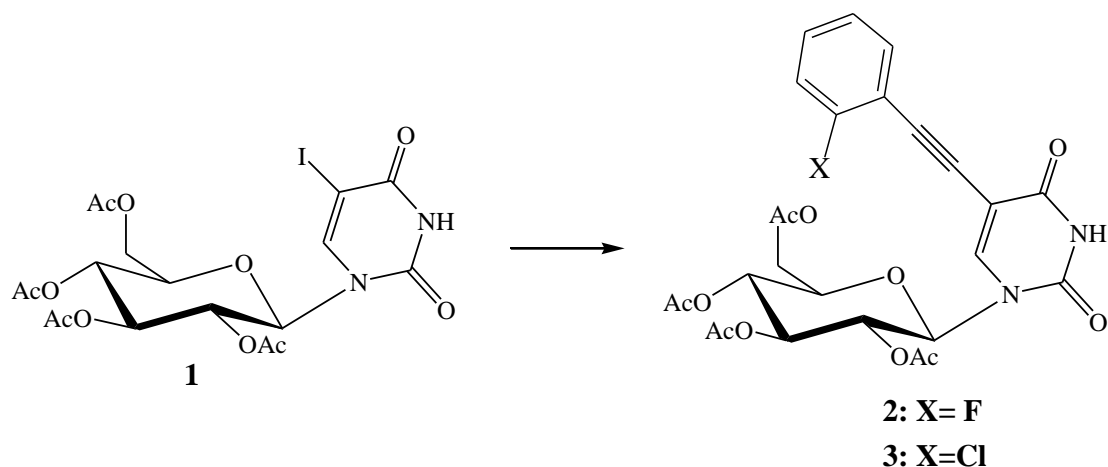
Εικόνα 28: Επισκόπηση της σύνθεσης των αλογονο-φαινυλο γλυκοπυρανονουκλεοζιτών της ουρακίλης.

3.3.2 Μεθοδολογία της σύνθεσης.

Η πορεία της σύνθεσης ξεκίνησε με την σύζευξη της εμπορικά διαθέσιμης 1',2',3',4',6'-πεντάκис-Ο-ακέτυλο-*D*-γλυκοπυρανόζης (**1**), με την ετεροκυκλική βάση 5-ιωδοουρακίλη, παρουσία του άνυδρου διαλύτη ακετονιτριλίου (CH_3CN), εξαμεθυλοδισιλαζανίου (HMDS) καθώς και καταλυτικής ποσότητας σακχαρίνης και με την προσθήκη του τριφθορομεθανοσουλφονικού τριμεθυλοσιλυλεστέρα ($\text{Me}_3\text{SiOSO}_2\text{CF}_3$) υπό την ακτινοβολία μικροκυμάτων σε συνθήκες 200 Watt, 250 PSI για 8 λεπτά στους 80 °C. Έτσι λήφθηκε ο προστατευμένος νουκλεοζίτης 1-(2',3',4',6'-τετράκис-Ο-ακέτυλο-β-*D*-γλυκοπυρανόζυλο)-5-ιωδοουρακίλη (**1**) με ικανοποιητική απόδοση 83%. Στη συνέχεια ο προστατευμένος νουκλεοζίτης 1-(2',3',4',6'-τετράκис-Ο-ακέτυλο-β-*D*-γλυκοπυρανόζυλο)-5-ιωδοουρακίλη (**1**) διαλύθηκε σε άνυδρο διαλύτη *N,N*-διμέθυλοφορμαμίδιο (DMF), και με την προσθήκη καταλύτη τετράκισ- τρις- φαινυλοφωσφορικό παλλαδίο $\text{Pd}(\text{PPh}_3)_4$, συγκαταλύτη ιωδιούχο χαλκό (CuI), της βάσης τριαιθυλαμίνης (Et_3N) και του 1-αιθύνυλο- 2 - φθοροβενζολίου ή 1-αιθύνυλο- 2 - χλωροβενζολίου πραγματοποιήθηκε η σύζευξή τους υπό την ακτινοβολία μικροκυμάτων σε συνθήκες 200 Watt, 250 PSI για 5 λεπτά στους 60 °C λαμβάνοντας τους προστατευμένους νουκλεοζίτες 1-(2',3',4',6'-τετράκισ-Ο-ακέτυλο-β-*D*-γλυκοπυρανόζυλο)-5-(-2- φθοροβενζόλιο ή 2- χλωροβενζόλιο) της ουρακίλης (**2**) και (**3**) με αποδόσεις 78% και 72%, αντίστοιχα. Αμέσως μετά ακολούθησε η αποακετυλίωση των ενώσεων (**2**) και (**3**) με κορεσμένο διάλυμα μεθοξειδίου του νατρίου, η οποία οδήγησε στην σύνθεση των αντίστοιχων αποπροστατευμένων ενώσεων (**4**) και (**5**) με αποδόσεις 67% .

Στη συνέχεια επιχειρήθηκε η μερική υδρογόνωση των ενώσεων (**2**) και (**3**) ώστε να προκύψουν τα αντίστοιχα προϊόντα με διπλούς δεσμούς στη θέση των τριπλών και συγκεκριμένα οι *cis*-νουκλεοζίτες με στόχο την περαιτέρω διερεύνηση της σχέσης δομής-βιολογικής δράσης. Οι ενώσεις (**2**) και (**3**) διαλύθηκαν σε άνυδρη μεθανόλη (MeOH) παρουσία καταλύτη χλωριούχου νικελίου (NiCl_2),και βοροϋδριδίου του νατρίου (NaBH_4) ως αναγωγικού μέσου στους - 78°C. Τα προϊόντα όμως που ελήφθησαν, ήταν μη διαχωρίσιμα (μείγμα τριών αδιαχώριστων ενώσεων (*cis* νουκλεοζίτης, πλήρως υδρογονωμένος και αντιδρών). Το ίδιο αποτέλεσμα λήφθηκε και είτε όταν αυξήθηκε ο χρόνος της αντίδρασης είτε όταν η αντίδραση επιχειρήθηκε με καταλύτη P-2 νικέλιο) ή $\text{NaBH}_4/\text{Ni}(\text{OAc})_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ σε μικτό διάλυμα (THF/MeOH 1:1) ή σκόνη ψευδαργύρου με AcOH σε μικτό διάλυμα (THF/MeOH 10:1) ή $\text{Zn}(\text{Cu}/\text{Ag})/\text{TMSCl}$ και triethysilane (Et_3SiH) ή καταλύτη Lindlar με κινολίνη σε ακετόνη. Το επόμενο βήμα ήταν η πλήρης αναγωγή των ενώσεων (**2**) και (**3**) με καταλυτική υδρογόνωση παρουσία καταλύτη παλλαδίου σε ενεργοποιημένο άνθρακα (Pd/C) αφού προηγουμένως τα είχαμε διαλύσει σε άνυδρη μεθανόλη (MeOH) με αποδόσεις 52% και 49% αντιστοίχως (ενώσεις (**8**) και (**9**)). Το τελευταίο βήμα της πορείας αυτής ήταν η αποακετυλίωση των ενώσεων (**8**) και (**9**) με κορεσμένο διάλυμα μεθοξειδίου του νατρίου , η οποία οδήγησε στην σύνθεση των αντίστοιχων αποπροστατευμένων ενώσεων (**10**) και (**11**) με αποδόσεις 86% .

3.3.3 Σύνθεση των 1-(2',3',4',6'-τετράκις-O-ακέτυλο-β-D-γλυκοπυρανόζυλο)-5-[-(2-φθόρο- ή χλωρο-φαίνυλο) - αιθύνυλο] νουκλεοζιτών της ουρακίλης.



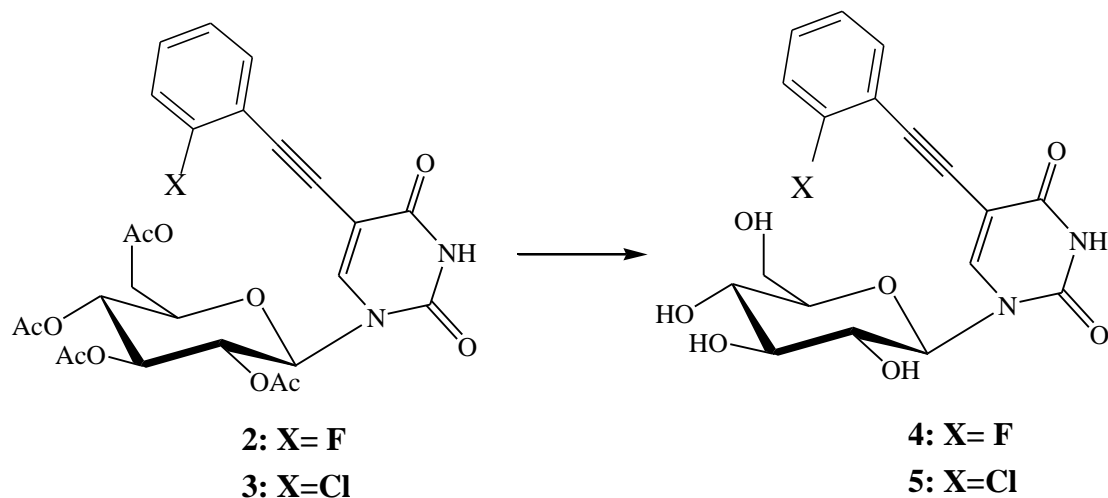
Η σύνθεση των (2) και (3) επιτεύχθηκε με τη μέθοδο των μικροκυμάτων ως εξής:

Σε γυάλινο φιαλίδιο των 10 ml διαλύονται σε 0,3 ml άνυδρου διαλύτη *N,N*-διμεθυλοφορμαμιδίου (DMF), 0,18 mmol (100 mg) της 1-(2',3',4',6'-τετράκις-O-ακέτυλο-β-D-γλυκοπυρανόζυλο)-5-ιωδοουρακίλης (1), 0,54 mmol του κατάλληλου τελικού αλκινίου, 0,018 mmol $\text{Pd}(\text{PPh}_3)_4$, 0,018 mmol CuI , 0,36 mmol Et_3N και εν συνεχεία ακτινοβολούνται σε συνθήκες 200 Watt, 250 PSI για 5 λεπτά στους 60 °C. Η επεξεργασία που ακολουθείται για την παραλαβή του προϊόντος περιλαμβάνει καθαρισμό του υπολείμματος σε στήλη χρωματογραφίας (silica gel) χρησιμοποιώντας ως διαλύτη έκλουσης το διάλυμα Δ (οξικός αιθυλεστέρας/εξάνιο 5:5). Τα επιθυμητά προϊόντα (2 και 3) ελήφθησαν υπό τη μορφή αφρώδους στερεού κίτρινου χρώματος με αποδόσεις 78%, και 72% αντίστοιχα.

	Προϊόν 2	Προϊόν 3
TLC	R _f = 0,19 (EtOAc/Hex 5:5, Δδ B)	R _f = 0.26 (EtOAc/ Hex 5:5, Δδ B)
Απόδοση	78%	72%
[α]_D²²	- 2° (c 0.19, CHCl ₃)	- 2° (c 0.13, CHCl ₃)
λ_{max}	306 nm	308 nm

Πίνακας 1: Αποτελέσματα σύνθεσης των 1-(2',3',4',6'-τετράκις-O-ακέτυλο-β-D-γλυκοπυρανόζυλο)-5 -[(-2 –φθόρο ή χλωροφαίνυλο) -αιθύλυο] νουκλεοζιτών της ουρακίλης (**2**) και (**3**).

3.3.4 Σύνθεση των 1-(β-D-γλυκοπυρανόζυλο)-5-[(2- φθόρο- ή χλώρο-φαίνυλο)- αιθύνυλο] νουκλεοζιτών της ουρακίλης.



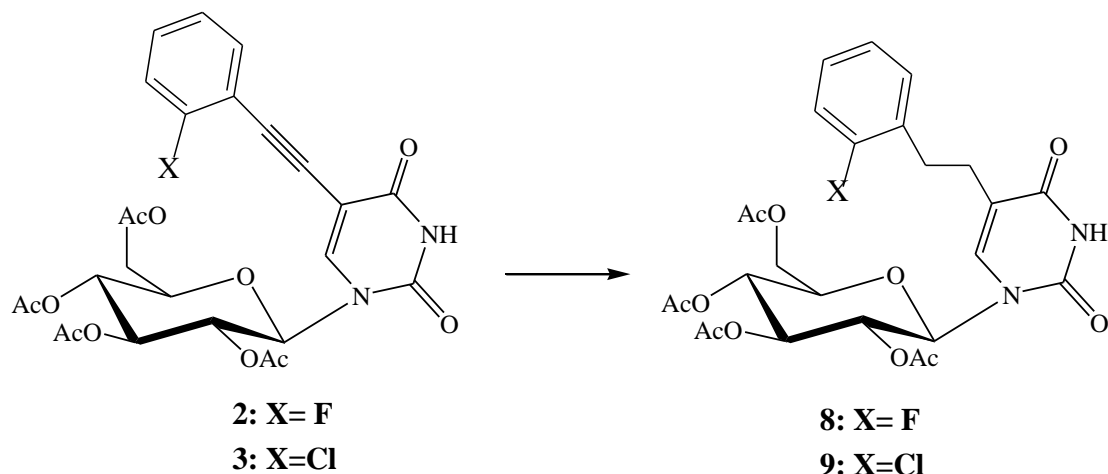
Η αποπροστασία των νουκλεοζιτών (**2**) και (**3**) έγινε ως εξής:

Σε σφαιρική φιάλη των 50 ml διαλύονται σε 6,2 ml άνυδρου διαλύτη μεθανόλη (MeOH), το (**2**) ή (**3**) (50 mg, $\approx 0,09$ mmol), και προστίθενται 0,9 ml διαλύματος μεθοξειδίου του νατρίου (MeONa, 1,6 M) υπό ανάδευση για 2 ώρες. Στη συνέχεια γίνεται εξουδετέρωση με όξινη ρητίνη μέχρι το pH του διαλύματος να γίνει ≈ 7 . Η επεξεργασία που ακολουθείται για την παραλαβή του προϊόντος περιλαμβάνει καθαρισμό του υπολείμματος σε στήλη χρωματογραφίας (silica gel) χρησιμοποιώντας ως διαλύτη έκλουσης οξικός αιθυλεστέρα (AcOEt). Τα επιθυμητά προϊόντα (**4**) και (**5**) ελήφθησαν υπό τη μορφή ελαίων κίτρινου χρώματος με απόδοση 67%, και για τα δύο μόρια.

	Προϊόν 4	Προϊόν 5
TLC	R _f = 0,55 (CH ₂ Cl ₂ /MeOH 8:2, Δδ Δ)	R _f = 0.10 (CH ₂ Cl ₂ /MeOH 9:1, Δδ Ε)
Απόδοση	67%	67%
[α]_D²²	- 3° (c 0.13, MeOH)	- 2° (c 0.40, MeOH)
λ_{max}	306 nm	308 nm

Πίνακας 2: Αποτελέσματα σύνθεσης των 1-(β-D-γλυκοπιρανόζυλο)-5-[(2- φθόρο- ή χλώρο-φαίνυλο)- αιθύνυλο] νουκλεοζιτών της ουρακίλης (**4**) και (**5**).

3.3.5 Σύνθεση των 1-(2',3',4',6'-τετράκις-O-ακέτυλο-β-D-γλυκοκυρανόζυλο)-5 -[(2 -φθόρο ή χλωρο-φαίνυλο) - αίθυλο]- νουκλεοζιτών της ουρακίλης.



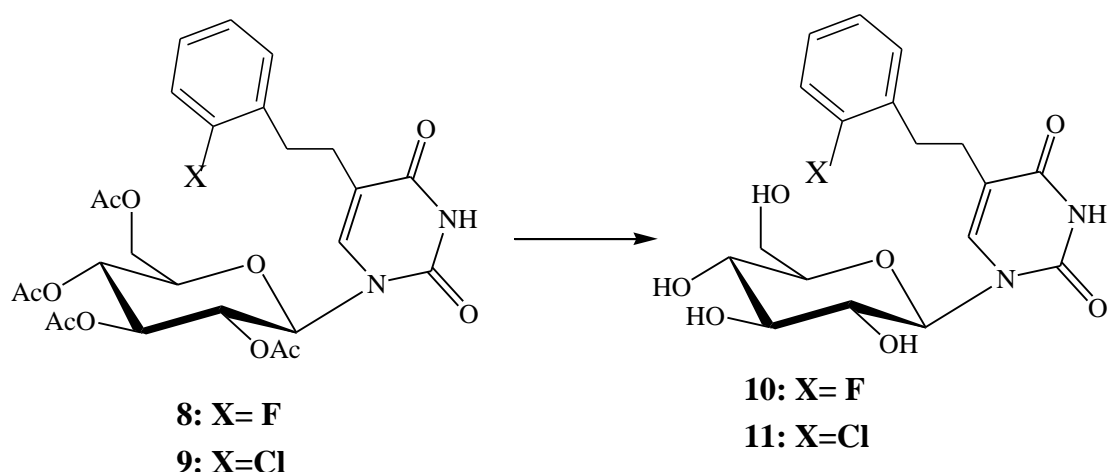
Η πλήρης αναγωγή των **(2)** και **(3)** επιτεύχθηκε ως εξής:

Σε σφαιρική φιάλη των 50 ml διαλύονται σε 23,2 ml άνυδρου διαλύτη μεθανόλη (MeOH), το **(2)** ή **(3)** (100 mg, $\approx 0,17$ mmol), και προστίθενται 57,8 mg καταλύτη παλλαδίου σε ενεργοποιημένο άνθρακα (Pd/C) και στη συνέχεια, το διάλυμα της αντίδρασης αφέθηκε με έντονη ανάδευση για 24 ώρες σε θερμοκρασία 20 °C υπο αέριο υδρογόνο ($\uparrow H_2$). Η επεξεργασία που ακολουθείται για την παραλαβή του προϊόντος περιλαμβάνει καθαρισμό του υπολείμματος σε στήλη χρωματογραφίας (silica gel) χρησιμοποιώντας ως διαλύτη έκλουσης το διάλυμα Δ: οξικός αιθυλεστέρας/εξάνιο (50/50). Τα επιθυμητά προϊόντα (**(8)** και **(9)**) ελήφθησαν υπό τη μορφή αφρώδους στερεού κίτρινου χρώματος με αποδόσεις 52%, και 49% αντίστοιχα.

	Προϊόν 8	Προϊόν 9
TLC	R _f = 0,19 (EtOAc/Hex 5:5, Δδ B)	R _f = 0.26 (EtOAc/ Hex 5:5, Δδ B)
Απόδοση	52%,	49%
[α]_D²²	- 2° (c 0.19, CHCl ₃)	- 2° (c 0.13, CHCl ₃)
λ_{max}	306 nm	308 nm

Πίνακας 3: Αποτελέσματα σύνθεσης των 1-(2',3',4',6'-τετράκις-Ο-ακέτυλο-β-D-γλυκοπυρανζυλο)-5 -[(-2 –φθόρο ή χλωροφαίνυλο) - αίθυλο]-νουκλεοζιτών της ουρακίλης (**8**) και (**9**).

3.3.6 Σύνθεση των 1-(β-D-γλυκοπυρανόζυλο)-5-[(2- φθόρο- ή χλώρο-φαίνυλο)-αίθυλο] νουκλεοζιτών της ουρακίλης.



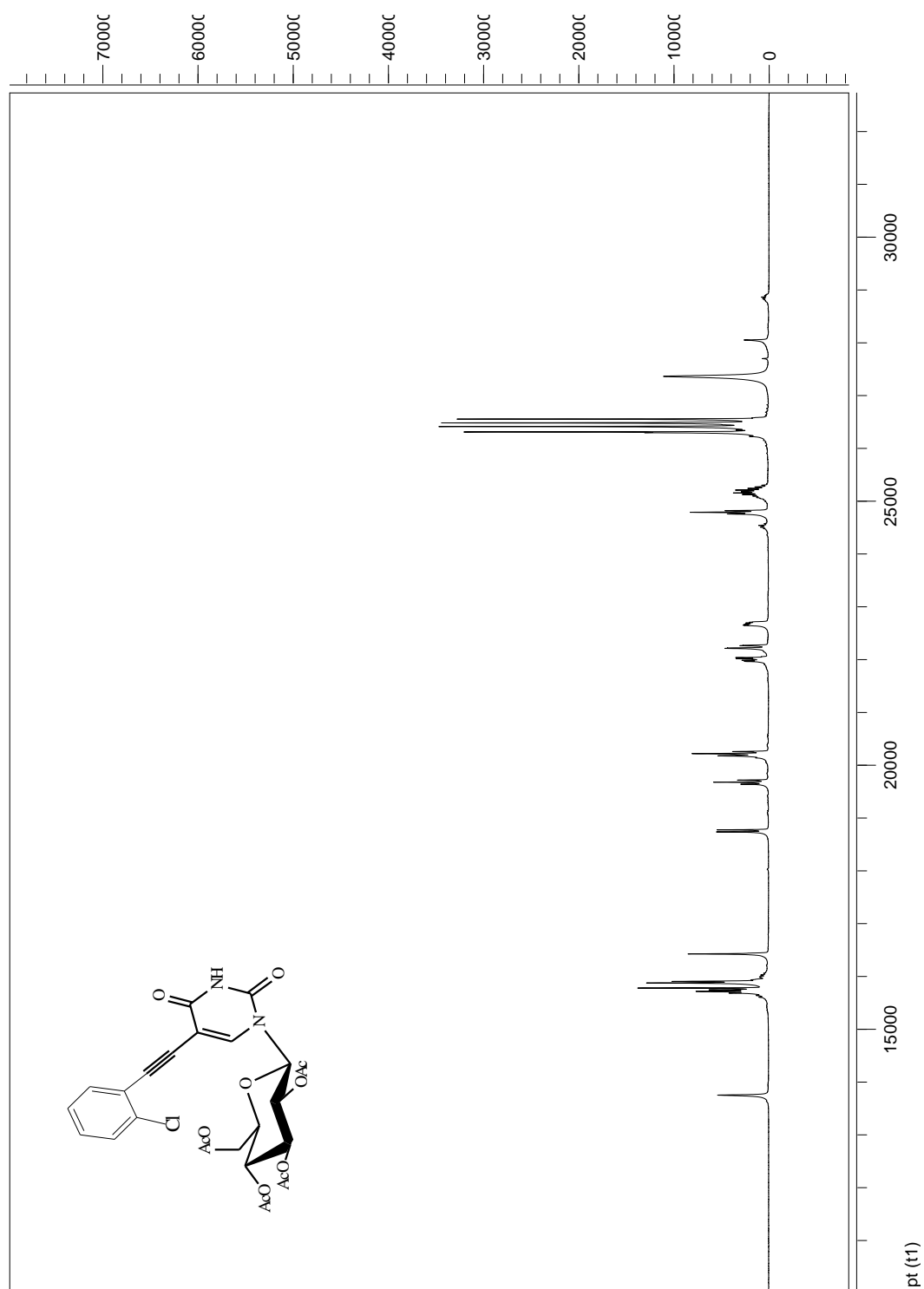
Η αποπροστασία των νουκλεοζιτών **8** και **9** έγινε ως εξής:

Σε σφαιρική φιάλη των 50 ml διαλύονται σε 6,2 ml άνυδρου διαλύτη μεθανόλη (MeOH), το **(8)** ή **(9)** (50 mg, $\approx 0,09$ mmol), και προστίθενται 0,9 ml διαλύματος μεθοξειδίου του νατρίου (MeONa, 1,6 M) υπό ανάδευση για 2 ώρες. Στη συνέχεια γίνεται εξουδετέρωση με όξινη ρητίνη μέχρι το pH του διαλύματος να γίνει ≈ 7 . Η επεξεργασία που ακολουθείται για την παραλαβή του προϊόντος περιλαμβάνει καθαρισμό του υπολείμματος σε στήλη χρωματογραφίας (silica gel) χρησιμοποιώντας ως διαλύτη έκλουσης οξικός αιθυλεστέρα (AcOEt). Τα επιθυμητά προϊόντα (**(10)** και **(11)**) ελήφθησαν υπό τη μορφή αφρώδους στερεού κίτρινου χρώματος με απόδοση 86%, και για τα δύο μόρια.

	Προϊόν 10	Προϊόν 11
TLC	R _f = 0,55 (CH ₂ Cl ₂ /MeOH 8:2, Δδ Δ)	R _f = 0.10 (CH ₂ Cl ₂ /MeOH 9:1, Δδ Ε)
Απόδοση	86%	86%
[α]_D²²	- 3° (c 0.13, MeOH)	- 2° (c 0.40, MeOH)
λ_{max}	306 nm	308 nm

Πίνακας 4: Αποτελέσματα σύνθεσης των 1-(β-D-γλυκοπιρανόζυλο)-5-[-(2- φθόρο- ή χλώρο-φαίνυλο)-αίθυλο] νουκλεοζιτών της ουρακίλης (**10**) και (**11**).

4.ΤΑΥΤΟΠΟΙΗΣΗ ΜΕ ^1H - NMR



Εικόνα 29: Φάσμα ^1H NMR του τελικού προϊόντος (**3**)

5. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ- ΣΥΖΗΤΗΣΗ

Η ανάπτυξη νουκλεοζιτικών αναλόγων ως πιθανά φάρμακα προέκυψε από τις προσπάθειες των ερευνητών για την καταπολέμηση χρόνιων νοσημάτων όπως κακοήθεις νεοπλασίες και ιικές μολύνσεις. Βασικός στόχος όλων των ερευνητικών μελετών και προσπαθειών είναι η ανάπτυξη νουκλεοζιτικών αναλόγων, που παρουσιάζουν χαμηλή τοξικότητα σε υγιή κύτταρα όπως κύτταρα του ανοσοποιητικού συστήματος και εκλεκτικότητα όσον αφορά την δράση τους.

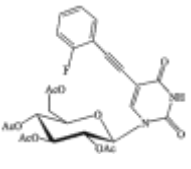
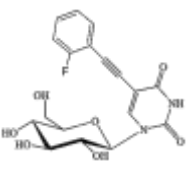
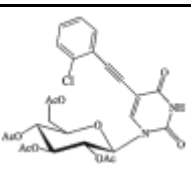
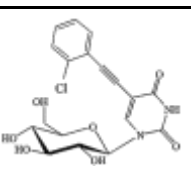
Στην παρούσα διπλωματική εργασία πραγματοποιήθηκε η σύνθεση μιας νέας τάξης γλυκοπυρανονουκλεοζιτών με τροποποίηση στο τμήμα της βάσης με πιθανή αντικαρκινική και αντιική δράση. Η πειραματική διαδικασία ήταν σχετικά απλή, ταχεία, έχοντας πραγματοποιήσει σύντομα βήματα. Η αντίδραση Sonogashira επιτεύχθηκε με την χρήση μικροκυμάτων, η οποία αποτελεί “πράσινη” τεχνική και υπερέχει σε σχέση με τη συμβατική θέρμανση στα εξής βασικά σημεία:

1. Προσφέρει ομοιόμορφη θέρμανση σε όλο το μίγμα της αντίδρασης.
2. Αυξάνει σημαντικά την ταχύτητα της αντίδρασης.
3. Ελαττώνει τον σχηματισμό παραπροϊόντων.
4. Παρέχει αυξημένες αποδόσεις.

Οι τελικές αποδόσεις που πήραμε από τη σύνθεση των τελικών γλυκοπυρανονουκλεοζιτών είναι αρκετά καλές. Πιο συγκεκριμένα, η σύνθεση των 1-(2',3',4',6'-τετράκις-Ο-ακέτυλο-β-D-γλυκοπυρανόζυλο)-5 -[(-2 -φθόρο ή χλωροφαίνυλο) -αιθύνυλο] νουκλεοζιτών της ουρακίλης **(2)** και **(3)** (αντίδραση Sonogashira) είχε απόδοση 78% και 72% αντίστοιχα, των 1-(β-D-γλυκοπυρανόζυλο)-5-[(-2- φθόρο- ή χλώρο-φαίνυλο)- αιθύνυλο] νουκλεοζιτών της ουρακίλης **(4)** και **(5)** είχε αποδόσεις 67%, των 1-(2',3',4',6'-τετράκις-Ο-ακέτυλο-β-D-γλυκοπυρανόζυλο)-5 -[(-2 -φθόρο ή χλωροφαίνυλο) - αίθυλο]-νουκλεοζιτών της ουρακίλης **(8)** και **(9)** είχε απόδοση 52% και 49% και των 1-(β-D-γλυκοπυρανόζυλο)-5-[(-2- φθόρο- ή χλώρο-φαίνυλο)-αίθυλο] νουκλεοζιτών της ουρακίλης **(10)** και **(11)** είχε αποδόσεις 86%

Όλες οι νέες ενώσεις χαρακτηρίζονται από αναλύσεις φάσματος πυρηνικού μαγνητικού συντονισμού ¹H NMR.

Όλα τα μόρια αξιολογήθηκαν για την κυτταροτοξική και κυτταροστατική τους δράση έναντι κυττάρων λευχαιμίας ποντικού (L1210), ανθρώπινου λεμφώματος (CEM) καθώς και των ανθρώπινων καρκινικών κυττάρων του τραχήλου της μήτρας (HeLa). Για την εκτίμηση της κυτταροστατικής δράσης χρησιμοποιήθηκε η παράμετρος IC₅₀, η οποία αντιπροσωπεύει τη συγκέντρωση του φάρμακου που απαιτείται για την αναστολή της κυτταρικής ανάπτυξης κατά 50%.

COMPOUND	IC ₅₀ ^a (μM)		
	L1210	CEM	HeLa
(2) 	25 ± 4	42 ± 6	36 ± 6
(3) 	> 250	> 250	> 250
(4) 	37 ± 16	32 ± 1	41 ± 25
(5) 	> 250	> 250	> 250
Ph-Ur-Glucose	6.2 ± 0.4	5.2 ± 2.6	5.4 ± 0.

Όπως προκύπτει από τον παραπάνω πίνακα οι ακετυλιωμένοι C5-αλογονοφαίνυλο - πυρανονουκλεοζίτες εμφανίζουν αξιοσημείωτη ανασταλτική δράση εναντίον των συγκεκριμένων καρκινικών σειρών (όχι καλύτερη όμως από τον 1(β-D-γλυκοπυρανοζυλο)-5 φαινυλοαιθύνυλο νουκλεοζίτη της ουρακίλης). Πιο συγκεκριμένα ο 1-(2',3',4',6'-τετράκις-O-ακέτυλο-β-D-γλυκοπυρανόζυλο)-5 -[(-2-φθόροφαίνυλο) -αιθύνυλο] νουκλεοζίτης της ουρακίλης παρουσίασε καλύτερη δράση έναντι των σειρών L1210 και HeLa σε σχέση με τον 1-(2',3',4',6'-τετράκις-O-ακέτυλο-β-D-γλυκοπυρανόζυλο)-5 -[(-2-χλωροφαίνυλο) -αιθύνυλο] νουκλεοζίτη της ουρακίλης που παρουσίασε καλύτερη δράση έναντι της σειράς CEM. Αντίθετα τα αποακετυλιωμένα ανάλογά τους δεν εμφάνισαν αξιοσημείωτη κυτταροστατική δράση. Τέλος αναφέρουμε πως η βιολογική αποτίμηση των πλήρως υδρογονομένων νουκλεοζιτών, τόσο των ακετυλιωμένων όσο και των αποπροστατευμένων είναι υπο εξέταση και αναμένουμε τα αποτελέσματα.

6.ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

- 1) Α.Βάρβογλη (2005). Επίτομη Οργανική Χημεία, Εκδόσεις Ζήτη
- 2) McMurry, John 2000, ΟΡΓΑΝΙΚΗ ΧΗΜΕΙΑ, ΤΟΜΟΣ II – ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΑΚΕΣ ΕΚΔΟΣΕΙΣ ΚΡΗΤΗΣ
- 3) Σημειώσεις Μοριακής Ιολογίας. Π. Μαρκουλάτος , Πανεπιστημιακές Εκδόσεις Θεσσαλίας , 2011.
- 4) Raymond A. Serway- Clement J. Moses- Curt A. Moyer. Σύγχρονη Φυσική - ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΑΚΕΣ ΕΚΔΟΣΕΙΣ ΚΡΗΤΗΣ
- 5) Έβη Μάνεση- Ζούπα Γενική & Ανόργανη Χημεία, Τόμος Δ΄ : Τα Αντιπροσωπευτικά Στοιχεία και οι Ενώσεις τους, Ελληνικό Ανοικτό Πανεπιστήμιο (2008)
- 6) Athina Dimopoulou, Nikolaos Kollatos, Stella Manta, Aggeliki Panagiotopoulou, Dominique Schols, and Dimitri Komiotis : Substituted C5 Base Modified Pyranonucleosides and their biological activities (2016)